



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID TLEMCCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
l'environnement
« LAMAABE »

MÉMOIRE

Présenté par

BENTAHROUR Djawhar Asma

BOUANANI Zakia

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie fondamentale

Thème

Étude de la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* en milieu hospitalier en Algérie

Soutenu le 02 juillet 2022, devant le jury composé de

Président	Mme BELLIFA. S	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme AYAD. A	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme MESLI. A	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022



REMERCIEMENT

En premier lieu, on remercie le dieu, le tout puissant qui nous a guide dans la bonne voie de la science et de la connaissance, et qui nous a donne la patience et la force pour poursuivre et dépasser tous les obstacles.

Nous adressons nos profondes gratitude et nos sincères remerciement à notre encadrant Mme AYAD. A d'avoir acceptée de nous encadrer, pour le soutien qu'elle nous a porté, qui nous a suivi et orientée tout au long de notre travail, on la remercier pour sa grande disponibilité, sa confiance, sa patience, sa gentillesse et ses remarques

On voudrait remercier également les membres du Jury,

Mme BELLEFA. S pour l'honneur qu'elle nous à fait pour présider ce jury.

Mme MESLQ A d'avoir acceptée d'examiner ce modeste travail.

DÉDICACE

Je dédie ce travail

Aux deux personnes qui me sont les plus chers au monde, mes très chers parents, qui ont beaucoup sacrifié, qui m'ont soutenue jusqu'à la fin de mes études et qui n'ont jamais cessé de m'encourager et me pousser de l'avant. Je

leur offre ce travail comme fruit de toutes mes années d'étude.

A mes chères Sœurs et mon cher frère, qui m'ont toujours encouragée et aidée

A ma grand-mère

A ma très chère binôme Zakia, pour tous les moments qu'on a enduré ensemble

A mes chères amies et copines : Meroua, Asma, Salima.

A toute personne que j'aime

ASMA



DÉDICACE

Je dédie ce travail en priorité à mes parents, qui ont toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Je n'aurais certainement pas atteint ce chemin sans leur aide continue, et aujourd'hui cette mémoire est là pour leur montrer que leurs efforts n'ont pas été vains. A mes amies Boudjemma Merwa Latefa et Berrada Asma et à mes deux frères Fouzi et Mohammed

ZAKIA



RÉSUMÉ

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste responsable essentiellement d'infections nosocomiales. L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez cette espèce, représente un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans cette étude les 12 articles rapportant des données phénotypiques et/ou moléculaires sur des souches de *P.aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques en milieu hospitalier en Algérie, ont été analysés. L'étude de la sensibilité aux différents antibiotiques, dont les β -lactamines, aminosides, quinolones et la colistine par différentes méthodes, a révélé des taux de résistance élevés pour la plupart des antibiotiques testés. Différents gènes de résistance aux β -lactamines ont été détectés : les pénicillinases *bla*_{OXA-10}, *bla*_{TEM-110} et le *bla*_{PSE-1}, les β -lactamases à spectre étendu *bla*_{SHV-2}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M2} et *bla*_{PER} et les carbapénémases de type VIM-2 et VIM-4. La majorité des souches étudiées sont résistantes à l'imipénème par mutations dans le gène *oprD*. D'autres gènes de résistance aux aminosides (*aacA*, *aadA*, *aadB*, *aac* (6')-Ib, *aac* (3')-II, *aph* (3')-VI et *rmtB*) et à la colistine (*mcr-1*) ont été aussi détectés et concernant les quinolones aucun des gènes de résistance plasmidique n'a été trouvé chez les souches étudiées.

La diffusion rapide des souches hospitalières de *P.aeruginosa* résistantes aux antibiotiques, en Algérie, pose un grand problème en compliquant la prise en charge thérapeutique. Pour cela une surveillance plus attentive de la consommation des antibiotiques est nécessaire pour limiter l'émergence des gènes de résistance aux antibiotiques chez cette espèce dans les hôpitaux algériens.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa* ; résistance aux antibiotiques ; hôpitaux algériens ; gènes de résistance.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogenic bacterium mainly responsible for nosocomial infections. The increase and spread of antibiotic resistance in this species is a major public health problem worldwide.

In this study, the 12 articles reporting phenotypic and/or molecular data on strains of *P.aeruginosa* multiresistant to antibiotics in hospitals in Algeria were analyzed. The study of sensitivity to different antibiotics, including β -lactams, aminoglycosides, quinolones and colistin by different methods, revealed high resistance rates for most of the antibiotics tested. Different β -lactam resistance genes have been detected: penicillinases *bla*_{OXA-10}, *bla*_{TEM-110} and *bla*_{PSE-1}, extended-spectrum β -lactamases *bla*_{SHV-2}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M2} and *bla*_{PER} and carbapenemases VIM-2 and VIM-4 type. The majority of the strains studied are resistant to imipenems by mutations in the *oprD* gene. Other aminoglycoside (*aacA*, *aadA*, *aadB*, *aac(6')-Ib*, *aac(3')-II*, *aph(3')-VI* and *rmtB*) and colistin (*mcr-1*) resistance genes were also detected. However, concerning the quinolones none of the resistance genes were found in the strains studied.

The rapid spread of clinical strains of *P.aeruginosa* resistant to antibiotics in Algeria, poses a major problem complicating therapeutic care. For this, more careful monitoring of antibiotics use is necessary to limit the emergence of antibiotic resistance genes in Algerian hospitals.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; antibiotics resistance; Algerian hospitals; resistance genes

ملخص

Pseudomonas aeruginosa هي بكتيريا انتهازية ممرضة مسؤولة بشكل رئيسي عن عدوى المستشفيات. تعد زيادة مقاومة المضادات الحيوية وانتشارها في هذا النوع مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم.

في هذه الدراسة، تم حل بل الاثنتا عشر مقالا الذي يشير إلى البيانات النمطية و / أو الجزئية عن سلالات بكتيريا *P.aeruginosa* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية في المستشفيات الجزائرية. كشفت دراسة الحساسية للمضادات الحيوية المختلفة، بما في ذلك بيتا-لاكتام، أمينوغليكوزيدات، كينولون وكوليسيتين بطرق مختلفة، عن معدلات مقاومة عالية لمعظم المضادات الحيوية المختبرة. تم الكشف عن الجينات المشفرة للهنسليناز *bla*_{OXA-10} و *bla*_{TEM-110} و *bla*_{PSE-} و *bla*_{SHV-2} و *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M2} و *bla*_{PER} والكربابينيماز من نوع VIM-2 و VIM-4. غالبية السلالات المدروسة مقاومة للايميبينيم عن طريق الطفرات في جين *oprD*. تم الكشف أيضاً عن جينات أخرى مقاومة للأمينوغليكوزيد (*aacA* ، *aadB* ، *aadA* ، *aacA*) - *Ib* ، *aac* (6') - *II* ، *aac* (3') - *VI* - *aph* (3') و *rmtB* وكوليسيتين (*mcr-1*). فيما يخص الكينولون لم يتم العثور على أي من جينات المقاومة في السلالات المدروسة.

يشكل الانتشار السريع للسلالات السريرية من *P.aeruginosa* المقاومة للمضادات الحيوية في الجزائر مشكلة كبيرة، مما يعقد الرعاية العلاجية. لذا يجب مراقبة استهلاك المضادات الحيوية للحد من ظهور الجينات المقاومة في المستشفيات الجزائرية.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas aeruginosa*، مقاومة المضادات الحيوية، المستشفيات الجزائرية، جينات المقاومة

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cliché de microscopie électronique de <i>P.aeruginosa</i>	6
Figure 2: Le flagelle de <i>P.aeruginosa</i>	7
Figure 3: Les différents pigments sécrétés par le bacille pyocyanique.....	10
Figure 4: Chronologie de la découverte de certains antibiotiques.	16
Figure 5: Différentes cibles des antibiotiques.....	18
Figure 6: Les pompes d'efflux de la famille RND chez <i>P.aeruginosa</i>	23
Figure 7: Mécanisme de la régulation de l'expression du gène <i>ampC</i>	25
Figure 8: Illustration des sites modifiés par les enzymes modificatrices des aminosides.	28
Figure 9: Représentation schématiques des mécanismes de résistance non enzymatique aux aminosides développés par les cellules planctoniques de <i>P.aeruginosa</i>	28
Figure 10: Structure de la pompe à efflux RND MexXY (OprM) de <i>P.aeruginosa</i>	29
Figure 11: Test de Hodge montrant un résultat positif et négatif	42
Figure 12: A: Test de synergie EDTA-IMP; B: Test des disques combinés (CDT) pour une souche de <i>P.aeruginosa</i> productrice de MBL.....	43
Figure 13: Test Carba NP: (droite) négatif; (gauche) positif.....	44
Figure 14: Image de synergie signifiant la présence d'une BLSE	45
Figure 15: Taux de résistance à la ticarcilline et ticarcilline/acide clavulanique chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.....	50
Figure 16: Taux de résistance à la ceftazidime chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.	50
Figure 17: Taux de résistance à l'imipénème chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.	51
Figure 18: Taux de résistance à la gentamycine et à l'amikacine chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.	53
Figure 19: Taux de résistance à la ciprofloxacine chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.....	54
Figure 20: Carte d'Algérie montrant la localisation géographique des gènes de résistance aux antibiotiques chez les souches <i>P.aeruginosa</i> en milieu hospitalier.....	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
Tableau 2: Caractéristiques biochimiques de <i>P.aeruginosa</i>	9
Tableau 3: les principaux facteurs de virulence de <i>P.aeruginosa</i> : leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques	12
Tableau 4: Principales pathologies causées par <i>P.aeruginosa</i> et classes selon le site d'infection.	15
Tableau 5: Principaux antibiotiques actifs sur <i>P.aeruginosa</i>	21
Tableau 6: Articles analysés.....	35
Tableau 7: Nombre des souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> isolées en Algérie.....	49
Tableau 8: Les gènes de résistance détectés chez les souches hospitalières de <i>P.aeruginosa</i> en Algérie.....	Erreur ! Signet non défini.

LISTE DES ABREVEATIONS

16S:	Svedberg (vitesse de sédimentation).
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AmpC:	Bêta-lactamase chromosomique.
API 20NE:	Analytical profile index 20NE (N= Non, E= Entérobactéries).
ARNr :	Acide ribonucléique ribosomique.
BGN :	bacilles Gram négatif.
bla:	Gène codant une β -lactamase
BLAST:	Basic Local Alignment Search Tool.
BLSE :	β -lactamase à spectre étendu.
CDT :	Test des disques combinés.
CHU :	Centre hospitalier universitaire.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice.
CTX-M:	Cefotaximase Munich.
EDTA:	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid.
GES:	Guiana Extended Spectrum.
ICU:	Intensive care unit.
IgA:	Immunoglobulin A.
IgG:	Immunoglobulin G.
LPS:	Lipopolysaccharide.
LT :	lymphocytes.
MBL:	Métallo-bêta-lactamases.
Opr:	Outer membrane protein.
PBP:	Penicilline-binding protein.
PER:	Pseudomonas Extended Resistance.
QRDR:	Quinolone Resistance Determining Region
SHV:	Sulfhydryl variable.
TEM :	Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée.
VEB:	Vietnamese Extended Spectrum β -lactamase.
VIH :	virus immunodéficience humaine.
VIM :	Verona Imipémènase (carbapénèmase).

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENT	I
DEDICACES.....	II
RESUME.....	IV
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES ABREVEATIONS	IX
TABLE DES MATIERES.....	X
INTRODUCTION.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1. Généralité sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
1.1 Historique	4
1.2 Etymologie et Taxonomie	4
1.3 Niche écologique.....	5
1.4 Caractéristiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
1.4.1 Caractéristiques morphologiques et structuraux	5
4.1.1. Caractéristiques culturelles.....	7
1.4.2 Caractéristiques biochimiques.....	8
1.4.2.1 Métabolisme	8
1.4.2.2 Pigments	9
4.1.2. Caractéristiques antigéniques	10
1.5 Facteurs de virulence.....	11
1.6 Pathogénicité	14
2. Les antibiotiques	16
2.1. Historique	16
2.2. Définition et origine des antibiotiques	16
2.3. Classification.....	17
4.2.1. L'origine	17
4.2.2. La nature chimique.....	17
4.2.3. L'effet sur la bactérie	17
4.2.4. Le spectre d'activité.....	17
4.2.5. La cible bactérienne	18
2.4.5.1. Les antibiotiques agissant sur la paroi.....	18
2.4.5.2. Les antibiotiques agissant sur la membrane plasmique.....	19
2.4.5.3. Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques	19
2.4.5.4. Les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique	20
3. Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	22
3.1. Résistance intrinsèque	22
3.1.1. Céphalosporinases chromosomiques (AmpC)	22
3.1.2. L'oxacilinase PoxB	22
3.1.3. La faible perméabilité de la membrane externe	22
3.1.4. Les systèmes d'efflux.....	23
3.2. Résistance acquise.....	24
3.2.1. Mécanismes de résistance aux β -lactamines	24
3.2.1.1. Résistance enzymatique.....	24
3.2.1.2. Résistance non enzymatique.....	26

3.2.2. Mécanismes de résistance aux aminosides.....	27
3.2.2.1. Les enzymes modificatrices des aminosides	27
3.2.2.2. Résistance par efflux actif	29
3.2.2.3. Résistance par modification des lipopolysaccharides membranaires.....	29
3.2.2.4. Résistance par méthylation de l'ARN16S	30
3.2.3. Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones	30
3.2.3.1. Résistance par altération des cibles (QRDR)	30
3.2.3.2. Résistance par efflux actif	31
3.2.4. Mécanismes de résistance à la colistine	31
MATERIEL ET METHODES.....	34
1. Isolement	40
2. Identification	40
2.1. Galerie API 20NE et API 20E.....	40
2.2. MALDI-TOF	40
3. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	40
4. Détection phénotypique des β -lactamases.....	41
4.1. Recherche de la production des carbapénémases.....	41
4.1.3. Le test de Hodge (HT).....	41
4.1.4. Test Imipénème-EDTA	42
4.1.5. Le test Carba NP	44
4.2. Recherche de la production des BLSE et des céphalosporinases.....	44
4.2.1. Test de synergie.....	44
4.2.2. Test à la cloxacilline.....	45
5. Détection et identification des gènes de résistance aux antibiotiques.....	45
5.1. Extraction de l'ADN bactérien : méthode rapide par ébullition	45
5.2. Réaction de Polymérase en Chaîne (PCR) standard	46
5.3. Electrophorèse et révélation	46
5.4. Séquençage.....	46
5.5. Typage moléculaire des souches multirésistantes	46
5.5.1. Typage par ADN polymorphe amplifié aléatoire (RAPD)	46
5.5.2. Le typage par séquençage multilocus (MLTS)	47
5.5.3. Electrophorèse en champ pulsé (ECP)	47
RESULTATS ET DISCUSSION	48
1. Souches identifiées.....	49
2. Résistance aux antibiotiques chez <i>P.aeruginosa</i> en milieu hospitalier en Algérie ..	50
2.1. Résistance aux β -lactamines.....	50
2.2. Résistance aux aminosides	53
2.3. Résistance aux quinolones	54
2.4. Résistance à la colistine.....	55
3. Gènes de résistance aux antibiotiques chez <i>P. aeruginosa</i> en milieu hospitalier en Algérie.....	Erreur ! Signet non défini.
CONCLUSION.....	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	59
ANNEXES.....	82

INTRODUCTION

Depuis l'introduction de la pénicilline dans les années 1940, Un grand nombre d'agents antibactériens ont été développés et commercialisés à des fins thérapeutiques, réduisant ainsi de manière significative la morbidité et la mortalité humaines Associées aux infections bactériennes observées avant "l'ère des antibiotiques". Cependant, L'optimisme initial, fondé sur l'intime conviction que toute infection bactérienne pouvait être traitée avec ces composés, fut rapidement renversé quand les premiers rapports d'émergence de résistances aux antibiotiques virent le jour peu après Leur introduction en clinique pour le traitement des maladies infectieuses, le rendant ainsi difficile et parfois impossible (**Harbottle et al., 2006**). Ainsi, l'isolement dans les hôpitaux du monde entier des bacilles Gram négatif BGN multirésistants, appartenant essentiellement aux espèces *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* et les entérobactéries chez des patients présentant des pathologies sévères, est devenu un phénomène préoccupant pour la santé publique (**Cohen et Rollet, 2013**).

Pseudomonasa eruginosa s'est imposé comme un pathogène hospitalier majeur (**Mérens et al., 2011**). Il constitue l'espèce type et la plus importante du genre *Pseudomonas*, et représente à lui seul 90 % des bactéries de ce groupe isolé en clinique humaine. Grâce à la flexibilité génétique fournie par son grand génome, le *Pseudomonas aeruginosa* est doté d'une capacité d'adaptation incroyable à des conditions minimales nutritionnelles et est capable de supporter de variables conditions physiques lui permettant de persister en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (**Sadikot et al., 2015 ; Lister et al., 2009**).

P.aeruginosa est connue pour sa résistance intrinsèque, de diminution de l'expression des protéines de la membrane externe, des mutations des cibles des antibiotiques et da régulation de l'expression des pompes d'efflux ; et sa capacité à acquérir des gènes codant pour les déterminants de la résistance, notamment la production de β -lactamases et d'enzymes modifiant les aminosides (**Bonomo et Szabo, 2006**).

Au cours de la dernière décennie, les infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* ont été rapportées partout dans le monde, avec une émergence rapide et croissante de souches Multirésistantes, la plupart du temps dans des unités de soins intensifs (**Gaynes et Edwards 2005**).

La surveillance épidémiologique des résistances aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif, dont les souches de *P. aeruginosa*, montre ces dix dernières années en Algérie l'émergence de nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques (**Bakour et al., 2012; Drissi et al. 2008**;

Aggoune-Khinache et al. 2009; Baba Ahmed-Kazi Tani et al. 2013; Bakour et al., 2013; Mesli et al., 2013). Ceci reflète une situation très inquiétante de BGN multirésistants, présentant des résistances associées à au moins 3 classes d'antibiotiques, pour lesquelles la colistine reste souvent la seule molécule active, compliquant ainsi la prise en charge thérapeutique des patients dans les hôpitaux algériens.

Notre étude qui rentre dans ce cadre, a pour objectif de mettre le point sur l'état actuel de la résistance aux antibiotiques chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie. En effet, les douze (12) articles scientifiques rapportant des données phénotypiques et/ ou moléculaires de la résistance aux antibiotiques de cette espèce dans les hôpitaux algériens, ont été analysés.

Ce mémoire est divisé en trois parties : commençant par une synthèse bibliographique présentant les caractéristiques de *P.aeruginosa* ainsi que leurs principaux mécanismes de résistances aux antibiotiques. Ensuite, sont présentés le matériel et les méthodes utilisés dans les articles analysés. Enfin, une troisième partie est consacrée à la synthèse des résultats des articles analysés et aux discussions.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur *Pseudomonas aeruginosa*

1.1 Historique

L'agent pathogène bactérien opportuniste actuellement connu sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* a reçu plusieurs noms au cours de son histoire en fonction de la coloration bleu-vert caractéristique produite pendant la culture. SEDILLOT en 1850 a été le premier à observer que la décoloration des pansements chirurgicaux était associée à un agent transférable. (Lister *et al.*, 2009).

Puis, en 1860, FORDOS extrait le pigment qui a causé la coloration bleue, et en 1862, LUCKE est le premier à associer ce pigment à des créatures en forme de bâtonnet (Pitt, 1998). *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) a été décrite pour la première fois en 1872 par SCHROTER, qui a décrit une bactérie capable de produire un pigment bleu soluble dans l'eau sur du pus et des pommes de terre bouillies, et l'a nommée *Bacterium aeruginosum* (Hugh et Leifson, 1964).

En 1882, CHARLES GESSARD est le premier à réussir à isoler une souche de *Pseudomonas aeruginosa* comme double agent infectieux des plaies pendant la Première Guerre mondiale. (Chaker, 2012).

Vers les années 1900, le botaniste MIGULA a attribué le terme générique *Pseudomonas* aux espèces bactériennes (Palleroni, 2010). Enfin, le processus d'infection de *P. aeruginosa* a été décrit plus en détail par Freeman en 1916 (Freeman, 1916).

1.2 Etymologie et Taxonomie

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est constituée des mots grecs : *Pseudo* (imitation), *monas* (unité) et latin *aeruginosus* (couvert de rouille). Anciennement connu sous le nom «Le bacille pyocyannique» (du grec : *pyon* : pus ; et du latin : *cyaneus* : bleu foncé) (Terki Hassaine, 2016).

La classification de *Pseudomonas aeruginosa* repose d'abord sur l'étude de ses caractéristiques phénotypiques (morphologiques, biochimiques, etc.) puis sur ses caractéristiques génotypiques (Aissa, 2012). Seule la composante G+C% (= 67%) a été ajoutée comme critère génétique (Darghout et Metheni, 2016 ; Mezaache, 2012).

Pseudomonas aeruginosa est classée d'après Bergey comme suit :

Tableau 1: Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (Bert *et al.*, 1998).

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>aeruginosa</i>

1.3 Niche écologique

Pseudomonas aeruginosa est associé aux éléments aquatiques et son habitat est extrêmement diversifié, avec la répartition de l'eau dans de nombreuses niches écologiques : mers, rivières, réseaux domestiques (Khan *et al.*, 2007). C'est une bactérie commensale de l'homme et de l'animal, capable de coloniser le tube digestif, les voies respiratoires, les zones cutanées humides et même les voies urinaires (Magin, 2019).

Le bacille pyocyanique est très répandu dans les hôpitaux et provoque de nombreuses infections nosocomiales. Dans son environnement naturel, *P. aeruginosa* vit sous forme planctonique, mobile ou à l'état sessile dans un biofilm, attachée à une surface inerte ou une source de substrat (Chaker, 2012).

Il existe dans des niches écologiques aussi diverses principalement en raison de son forte capacité d'adaptation aux changements rapides des conditions physico-chimiques et de ses facteurs de virulence (Griffin *et al.*, 2004 ; Hibbing *et al.*, 2010).

1.4 Caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa*

1.4.1 Caractéristiques morphologiques et structuraux

C'est une bactérie à Gram négatif qui se présentent sous forme de bâtonnets droits et fins de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large (Figure 1) (Chaker, 2012 ; Sefraoui., 2015). C'est un germe non sporulé, parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée slime impliquée dans sa pathogénicité.

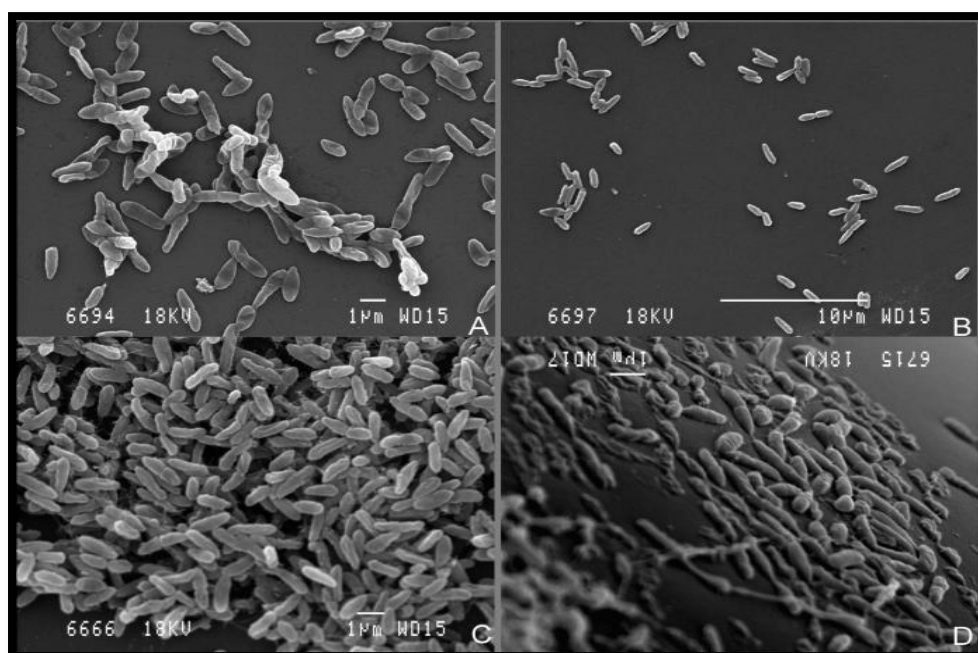


Figure 1: Cliché de microscopie électronique de *P.aeruginosa* (Perdu, 2013)

Elle est mobile à la fois en milieu liquide, grâce à son unique ciliature polaire qui lui permet de nager «swimming», et en milieu solide, grâce aux pili qui lui permettent de se déplacer par glissement «twitching». Elle peut également se déplacer dans des milieux semi-solides par «swarming» grâce au flagelle (figure 2) (Perdu, 2013). La morphologie de *P.aeruginosa*, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement identifiée grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible à l'extérieure, d'où le nom de bacille pyocyanique (Elmeskini, 2011)

Pseudomonas aeruginosa, comme la plupart des autres organismes gram-négatifs, a une structure de paroi composée d'une membrane externe, un espace périplasmique contenant le peptidoglycane et d'une membrane cytoplasmique interne.

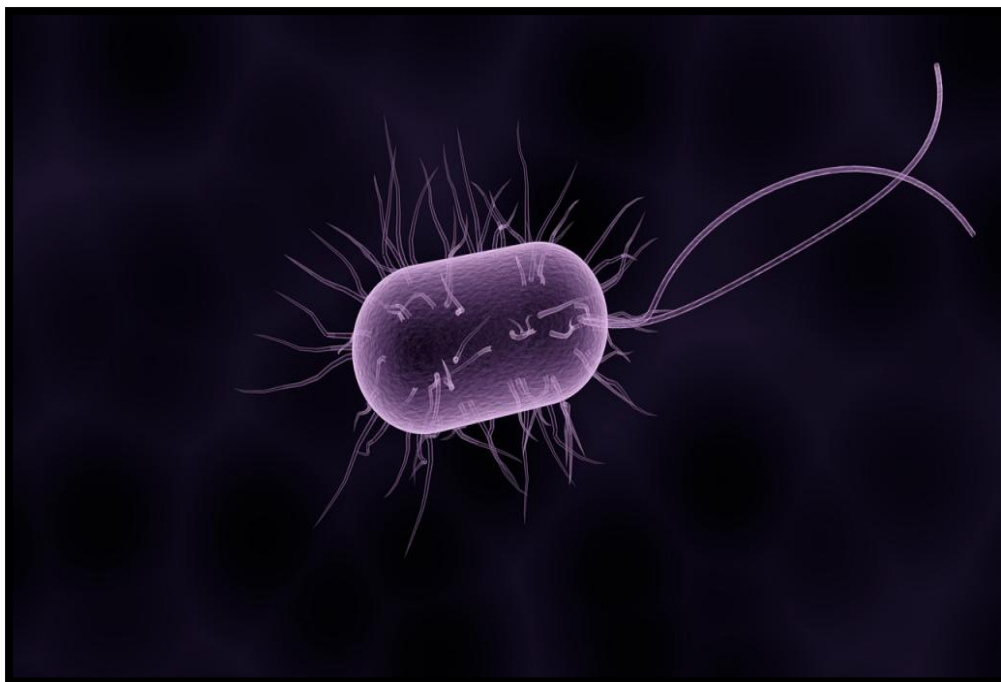


Figure 2: Le flagelle de *P.aeruginosa* (<https://www.sciencesetavenir.fr>)

4.1.1. Caractéristiques culturelles

P. aeruginosa est hautement versatile, dotée d'une grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique et n'exigeant aucun facteur de croissance (**Terki Hassaine, 2016**). Cette bactérie mésophile est capable de se développer à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 15 à 42°C. La température optimale de croissance est 37°C (**Barakat, 2012**) avec un temps de doublement *in vitro* de 40 minutes (**Méar, 2014**). La gamme de pH dans laquelle elle peut se croître est comprise entre 4,5 et 9,5 (**Brahim, 2019**).

Plusieurs types de milieux de culture sélectifs sont disponibles pour *P. aeruginosa* comme milieu MacConkey, milieu Drigalski et milieu gélose au cétrimide. Ce dernier peut servir à la fois à l'isolement et au dénombrement de *P. aeruginosa*. Le cétrimide est un antiseptique de la famille des ammoniums quaternaires, qui inhibe le développement d'une grande variété de microorganismes, y compris les espèces de *Pseudomonas* autres que *P. aeruginosa*. La formule du milieu cétrimide est dérivée de celle du milieu de King A. La présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium dans le milieu cétrimide stimule la production de pyocyanine, par la bactérie (**Magin, 2019**).

In vitro, les colonies poussent en 24 heures et sont plates à bord irrégulier et prenant un aspect irisé métallique avec le temps et possédant une odeur de seringa (également appelé jasmin des poètes) (**Cottalorda, 2020**) due à la production d'ortho amino-acétophénone (**Solbi, 2013**).

Particularité de cette espèce : isolement spontané en trois principaux types de colonies sur milieu gélosé :

- ❖ Des colonies larges (L), rugueuses avec un centre plus bombé et un bord irrégulier.
- ❖ Des colonies petites (S), lisses, mates, légèrement bombées à bord circulaire régulier.
- ❖ Des colonies de type muqueux (M) coalescentes, filantes, rencontrées chez les souches produisant un slime composé d'un polymère exopolysaccharidique appelé alginate (Lega, 2010).

1.4.2 Caractéristiques biochimiques

1.4.2.1 Métabolisme

D'un point de vue métabolique, *P.aeruginosa* est une bactérie chimio-organotrophe avec un métabolismestrictement oxydatif et/ou respiratoire. Elle peut en fait effectuer une respiration aérobie et anaérobie et elle peut également fermenter l'arginine et le pyruvate (Barakat, 2012).

Les caractéristiques biochimiques de *P. aeruginosa* sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2: Caractéristiques biochimiques de *P.aeruginosa*.

Catalase	Positive (+)
Oxydase	Positive (+)
Citrate	Positive (+)
Rouge de méthyle	Négative (-)
Voges Proskauer (VR)	Positive (+)
Coagulase	Négative (-)
Uréase	Négative (-)
Gas	Négative (-)
H ₂ S	Négative (-)
Gélatinase	Positive (+)
Indole	Négative (-)
Nitrate réductase	Positive (+)
ODC	Négative (-)
ADH	Positive (+)
LDC	Négative (-)
Glucose	Positive (+)
Fructose	Positive (+)
Galactose	Négative
Lactose	Négative (-)
Glycerol	Positive (+)
Hémolyse	Béta /Variable
Phénylalanine désaminase	Négative (-)

1.4.2.2 Pigments

Le bacille pyocyanique sécrète des pigments caractéristiques (**Figure 3**), comme la pyoverdine (jaune-vert), sidérophore impliqué dans la capture du fer, élément indispensable à la croissance et à la prolifération bactérienne (**Daly et al., 1984**) soluble dans l'eau et le chloroforme, il est produit dans le milieu King A, et la pyocyanine (bleu-vert) soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme, produit dans le milieu King B, il est visible sous l'ultra violet (**Darghout et Metheni, 2016**) (**Gillespie et Hawkey, 2005**). Il peut jouer le rôle d'accepteur terminal d'électrons permettant ainsi à la bactérie de croître en anaérobiose (**Daly et al., 1984**).

D'autres pigments hydrosolubles peuvent être élaborés parfois de manière transitoire : la pyomélanine brune et la pyorubine rouge.



Figure 3: Les différents pigments sécrétés par le bacille pyocyannique(<https://www.sfm-microbiologie.org>)

4.1.2. Caractéristiques antigéniques

Pseudomonas aeruginosa possède deux types d'antigènes :

- ❖ L'antigène somatique O : thermostable est un lipopolysaccharide (LPS) lié à une protéine. Composant de la paroi, il joue un rôle essentiel dans le pouvoir pathogène et dans l'immunité ; les anticorps correspondants sont agglutinants. Il existe 20 différents sérotypes de *P.aeruginosa* selon le schéma international du typage antigénique dont les plus connus sont les *aeruginosa* sérovars O.1 à O.12 (**Faure et al., 2002 ; Chaibdraa et al., 2008**). Le sérotype O.12 présente la particularité d'être le plus résistant aux antibiotiques et le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales (**Chaibdraa et al., 2008**).
- ❖ L'antigène flagellaire H : protéique, Thermolabile, permettant un typage qui, en combinaison avec le typage O, permet de reconnaître au moins 25 sérovars (**Zidoune et Benbelkacem, 2020**).

1.5 Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa* jouent un rôle important dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus. On distingue deux grands familles de facteur de virulence (**Tableau 3**) : les facteurs de virulence cellulaires ou associés à la membrane (flagelle, pili, lipopolysaccharide et alginate) et les facteurs de virulence sécrétés (exotoxine, phospholipase C, rhamnolipides, protéases, lectines, élastase, pyoverdine et pyocyanine) (**Ben Haj Khalifa et al ., 2011**).

Tableau 3: les principaux facteurs de virulence de *P.aeruginosa*: leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques (**Ben Haj Khalifa et al., 2011**).

Facteurs de virulence	Mode d'action	Effet pathogène induit
Lipopolysaccharide (LPS)	✓ Stimulation de la production de cytokines	- Choc
Pili	✓ Adhésion aux cellules épithéliales respiratoires	- Pathogénicité respiratoire
Flagelle	✓ Adhésion aux mucines Mobilité: rôle dans l'internalisation	- Diffusion bactérienne
Alginate	✓ Provoque le phénotype muqueux ✓ Adhésion aux cellules trachéales ✓ Inhibition de la phagocytose, de l'action des antibiotiques et de la réponse immunitaire	- Pathogénicité respiratoire Résistance aux défenses de l'hôte (phagocytose) et aux ATB Responsable du caractère mucoïde des souches
Exotoxine A	✓ Inhibition des synthèses protéiques des cellules Cibles.	- Mort cellulaire : nécrose tissulaire Rôle important dans la virulence
Exotoxine S	✓ Effet cytotoxique. ✓ Prolifération des LT	- Nécrose tissulaire Entraîne des lésions du glycopeptide, de lavimentine et des IgG et IgA
Exotoxine U	✓ Rôle antiphagocytaire	- Lésions des cellules épithéliales Responsable de bactériémie voire de choc Septique
Rhamnolipides	✓ Effet détergent	- Hydrolyse du surfactant
Elastases (LasA+LasB)	✓ Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène	- Destruction des tissus contenant de l'élastine. - Rôle important dans la virulence
Pyocyanine+Pyoverdine	✓ Action bactéricide sur les autres bactéries. ✓ Augmentation de la libération d'élastase ✓ Inhibition des battements des cils.	- Favorise l'émergence du bacille pyocyanique. - Diminution de la clairance des bacilles. - Rôle dans la survenue de vascularite d'artères pulmonaires.

	<ul style="list-style-type: none">✓ Captage du fer.✓ Induisent la synthèse de radicaux libres	
Lectines solubles	<ul style="list-style-type: none">✓ Inhibition des battements ciliaires des cellules pulmonaires	- Pathogénicité respiratoire Rôle dans l'infection chronique
Phospholipase C	<ul style="list-style-type: none">✓ Effet cytolytique local	- Lyse des cellules cibles Rôle dans l'infection aigue et chronique.
Protéase alcaline	<ul style="list-style-type: none">✓ Protéolyse	- Rôle dans les infections cornéennes

1.6 Pathogénicité

P. aeruginosa est invasif et toxigène, en raison de la production de facteurs de virulence de surface, qui lui permettent de s'attacher, de coloniser, et d'envahir les tissus, et sécrétés qui détruisent les tissus et déclenchent des processus inflammatoires (**Mesaros et al., 2007**).

Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010, le classe comme étant le troisième principal agent des infections nosocomiales, derrière *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Amazian et al., 2010**).

Pathogène opportuniste, *P. aeruginosa* profite de défaillance de l'hôte pour l'envahir et l'infecter. La défaillance peut être due à une rupture de l'intégrité des barrières physiques, particulièrement de la peau : blessure, brûlure, opération chirurgicale, intubation... mais aussi à des défenses immunitaires faibles, par exemple chez les personnes immunodéprimées lors de traitements de cancers, les patients atteints du VIH, ... Cette première colonisation opportuniste peut conduire à des infections aiguës ou chroniques, qui sont liées à deux modes de vie bactériens distincts : planctonique ou sessile (en biofilm) (**Perdu, 2013**).

La liste des infections à *Pseudomonas aeruginosa* est longue et ne cesse de croître (**Tableau 04**). Elle cause des bactériémies, des infections des voies intestinales, respiratoires, urinaires, des otites externes pouvant être mortelles chez les diabétiques. *P. aeruginosa* peut aussi générer des kératites ulcéreuses chez les porteurs de lentilles de contact, des infections de la peau, des plaies et des infections secondaires des brûlures (**Mesaros et al., 2007**). Elle est aussi capable de causer des méningites et des ostéomyélites en infectant le système nerveux central et les structures osseuses (**Carek et al., 2001**).

Tableau 4: Principales pathologies causées par *P.aeruginosa* et classes selon le site d'infection (Mesaros *et al.*, 2007).

Site d'infection	Pathologie spécifique	Fréquence (dans une population à risque)
Tractus respiratoire	– pneumonie aigue – infections chroniques de l'arbre bronchique	fréquent (hôpital; soins intensifs) mucoviscidose
Sang	– bactériémie and septicémie	Fréquent
Tractus urinaire	– infections aiguës – infections chroniques	relativement fréquent (complications suite a la présence de corps étrangers)
Oreille	– otite externe (oreille du nageur) – otite externe maligne – otite moyenne chronique suppurative	Fréquent
Peau et tissu mous	– dermatite – infections de plaie – infections de brûlures	Relativement fréquent (traumatismes)
	– <i>ecthyma gangrenosa</i> – pyodermite – folliculite – <i>acne vulgaris</i> resistant	patients neutropéniques
Œil	– keratite (ulcère cornéen) – enophtalmie – ophtalmie neonatal	rare (traumatisme)
Système nerveux central	– méningite – abcès cérébral	rare (secondaire a une neurochirurgie ou a un traumatisme)
Cœur	– endocardite	rare (abus de drogues intraveineuses)
Os et articulations	– pyoarthrose stenoarticulaire – osteomyélite vertébrale – infection de la symphyse pubienne – ostéochondrite du pied – osteomyélite	Rare
Tractus gastro-intestinal	– enterocolite necrosante – infections perirectales	Rare

2. Les antibiotiques

2.1. Historique

Le premier antibiotique identifié c'était la pénicilline, il a été découvert en 1928 par le microbiologiste Alexander Fleming. C'est un antibiotique naturel produit par le champignon *Penicillium notatum* (Ntsogo Enguene, 2016). Sa forme stable est élaborée en 1940 par Chain et ses collaborateurs (Chain *et al.*, 1940). Par la suite, d'autres molécules antibiotiques ont été découvertes (Figure 4) conduisant à l'essor de cette classe thérapeutique, permettant de traiter de nombreuses infections mortelles (Bovet, 1988).

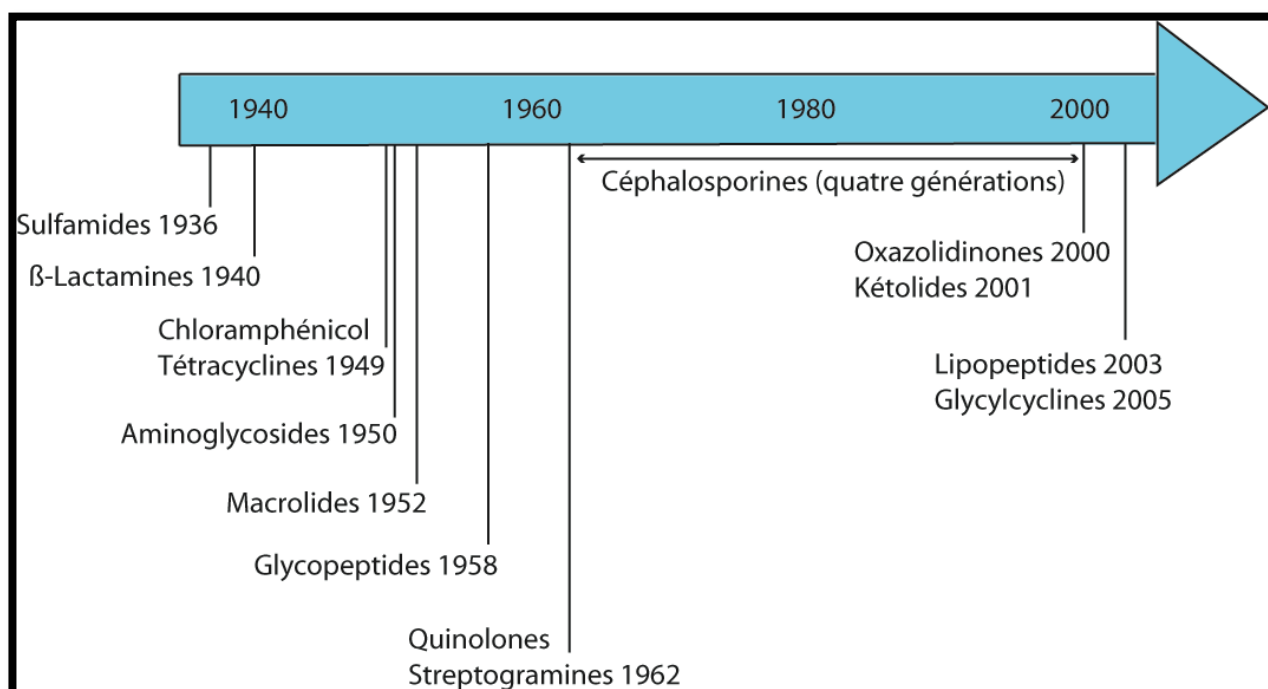


Figure 4: Chronologie de la découverte de certains antibiotiques(Walsh, 2003).

2.2. Définition et origine des antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec anti : contre, mikros : petit et bios : vie) (Muylaert et Mainil, 2012), un antibiotique est défini comme toute substance ayant le pouvoir d'inhiber la croissance et même de détruire un autre microorganisme. Les antibiotiques sont d'origine naturelle ou synthétique. Chaque antibiotique possède une cible bien déterminée et un mode d'action spécifique. En fonction de temps de contact avec les bactéries et de leur concentration, ils peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (Assel *et al.*, 2021).

2.3. Classification

Ces molécules peuvent être classées selon différents critères :

4.2.1. L'origine

Les antibiotiques sont élaborés par un organisme vivant ou produits par synthèse.

4.2.2. La nature chimique

Ce critère permet de classer les antibiotiques en différentes familles (aminosides, macrolides, phénicolés, β -lactamines,.) au sein desquelles peuvent exister des groupes ou sous-groupes. En général, à une parenté structurale s'associera un même mode d'action (sur une même cible) et un même mécanisme de résistance

4.2.3. L'effet sur la bactérie

Les antibiotiques peuvent entraîner la mort des bactéries (antibiotiques bactéricides) ou seulement inhiber leur croissance (antibiotiques bactériostatiques)

4.2.4. Le spectre d'activité

C'est le nombre des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs. Il peut être étroit ou large (**Harmouche, 2010**).

4.2.5. La cible bactérienne

C'est la classification la plus utilisée. Elle divise les antibiotiques en fonctions de leurs cibles bactériennes (**Figure 5**) qui sont : la paroi, la membrane, les ribosomes, le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs (**Ziai, 2014**)

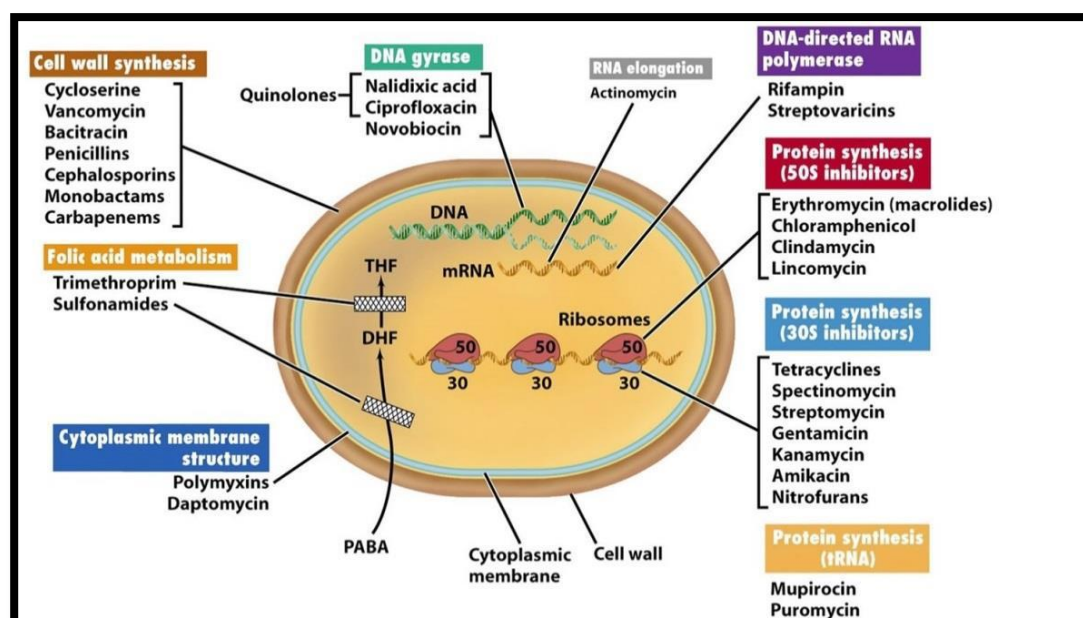


Figure 5: Différentes cibles des antibiotiques (**Dauvergne, 2018**).

2.4.5.1. Les antibiotiques agissant sur la paroi

Plusieurs familles d'antibiotiques ont comme cible des enzymes intervenant dans la synthèse de la paroi. Dans cette catégorie, on distingue

- Les **β -lactamines** : ont une action bactéricide, inhibent l'activité des transpeptidases et arrêtent la synthèse du peptidoglycane (constitutif de la paroi bactérienne) (**Dauvergne, 2018**).
- **Fosfomycine** : La fosfomycine inhibe la synthèse de la paroi bactérienne par action sur la pyruvyl transférase, impliquée dans l'une des premières réactions de la synthèse du peptidoglycane. Cette étape étant intracytoplasmique, la pénétration de la fosfomycine à l'intérieur de la bactérie est nécessaire à son activité (<https://pharmacomedicale.org/>).
- Les **glycopeptides** : qui se lient à un intermédiaire de synthèse : l'undécaprényl-phosphate (UDP), qui est un transporteur transmembranaire des précurseurs du peptidoglycane (**Bourahla et Haddach, 2016**).

2.4.5.2. Les antibiotiques agissant sur la membrane plasmique

Certains antibiotiques agissent sur la membrane plasmique bactérienne avec une action bactéricide. Ces antibiotiques polypeptidiques présentent une toxicité lors de leur administration. Ce sont des molécules d'origine naturelle synthétisés par des bactéries du genre *Bacillus*. Elles sont réparties en deux groupes:

- Les polypeptides tensio-actifs : Il s'agit des polymyxines (colistines) qui sont des antibiotiques cycliques. (Moroh, 2013). Les polymyxines A, D, C sont trop toxiques, c'est pour cette raison que seules les polymyxines B et E sont exploitées en thérapeutique (Matthieu *et al.*, 2010).
- Les polypeptides non tensio-actifs : Dans ce groupe, on note la tyrocidine, la bacitracine et la gramicidine (Moroh, 2013).

2.4.5.3. Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

On trouve des antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs

- **Les quinolones** sont des molécules bactéricides qui bloquent la réplication de l'ADN, Elles se concentrent dans le cytoplasme où elles se lient au topo-isomérase (ADNgyrase). les quinolones se fixent sur le complexe ADN- topoisomérase (ADN-ADN gyrase) et inhibent son fonctionnement ce qui bloque la réplication de l'ADN ainsi que sa transcription (Boussaid et Mokadem, 2018).
- **Les fluoroquinolones** sont des dérivées des quinolones par modification chimique, plus précisément par ajout d'un atome de fluor, lui conférant un plus large spectre que les quinolones (Andersson & MacGowan, 2003).
- **Les rifamycines** : Elles bloquent la synthèse des ARN messager en inhibant l'activité de l'ARN polymérase ADN dépendante. Elles ont un effet bactéricide et surtout utilisées pour traiter la tuberculose (Metuor Dabire, 2014).
- Les **sulfamides** sont des antibiotiques synthétiques bactériostatiques, avec un spectre d'action large, inhibent compétitivement la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et bloquent ainsi la synthèse de l'acide folique (Harmouche, 2010). D'autre part, le **triméthoprime** est un anti-infectieux bactériostatique. Le triméthoprime est utilisé en association avec le sulfaméthoxazole, un sulfamide. Cette combinaison, également connue sous le nom de Triméthoprime/sulfaméthoxazole, est utilisée pour son effet bactéricide (Sadikalay, 2018).

2.4.5.4. Les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique

L'antibiotique pénètre dans la cellule, et interrompt le ribosome bactérien, structure nécessaire à la synthèse des protéines. Ce blocage confère une activité bactéricide. Ce mécanisme concerne les aminosides, les tétracyclines et les macrolides (**Opatowski, 2020**).

- **Les aminosides** : Ces antibiotiques agissent en inhibant la synthèse des protéines en se liant au site aminoacyl de l'ARNr 16S de la petite sous-unité ribosomale 30S (**Sefraoui, 2015**), entraînant l'inhibition de l'étape d'élongation (en empêchant le transfert du peptidyl-ARNt depuis le site A vers le site P) conduisant à un arrêt de la synthèse protéique. De plus l'introduction d'erreurs dans la lecture des codons de l'ARNm, engendrent la production des protéines aberrantes (**Bouguenoun, 2017**).
- **Les tétracyclines** : Ils agissent au niveau de la sous unité 30S du ribosome en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt (**Bouacha et al., 2020**).
- **Les macrolides** : Les macrolides et apparentés forment de façon réversible une liaison à la sous-unité 50S des ribosomes, inhibant la transpeptidation et la translocation. Ce sont des antibiotiques bactériostatiques (**Legrand, 2017**).
- **Le chloramphénicol** se lie à la sous-unité 50S empêchant l'attachement des ARN de transfert au site A du ribosome. C'est un antibiotique bactériostatique (**Legrand, 2017**).

Le tableau ci-dessous regroupe les principaux antibiotiques présentant un intérêt thérapeutique contre *P. aeruginosa* (**Tableau 5**).

Tableau 5: Principaux antibiotiques actifs sur *P.aeruginosa* (Harmouche, 2010).

Classes	Mécanisme d'action
Antibiotiques inhibant la biosynthèse de la paroi bactérienne	
β - lactamines	Ils ont une action bactéricide. Ces molécules agissent sur la paroi des bactéries en se fixant aux enzymes indispensables à la formation du peptidoglycane (transpeptidases, glycosylases et carboxypeptidases appelés PLP ou protéines liant les pénicillines. En fait, ces enzymes lient l'antibiotique au lieu de lier leurs substrats. Il s'ensuit un affaiblissement du péptidoglycane et une lyse osmotique qui mène à la mort bactérienne. D'autre part, les antibiotiques de cette famille peuvent activer les enzymes responsables de la dégradation naturelle du péptidoglycane, les autolysines ou muréine-hydrolases
Antibiotiques agissant au niveau des membranes (externe et cytoplasmique)	
Polymyxines (colistine)	Elles agissent comme des détergents cationiques : grâce à leur caractère amphipathique, elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques. ce qui entraîne la désorganisation de la membrane et la perturbation de la perméabilité membranaire
Antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques	
Fluoroquinolones	Ces molécules ont une action bactéricide. Après leur pénétration dans la membrane externe des bactéries, elles inhibent la réplication de l'ADN. En effet, les quinolones agissent sur les topoisomérases (ADN gyrases) qui sont des enzymes régulant les changements de formes topologiques de l'ADN. Il s'en suit alors la formation d'un complexe ADN gyrase-Quinolone. C'est ainsi que ces antibiotiques empêchent la réplication, la transcription, la recombinaison et la réparation inhibant donc la synthèse de l'ADN.
Antibiotiques inhibant la synthèse protéique	
Aminosides	Ce sont des antibiotiques bactériostatiques à faibles doses et bactéricides à fortes doses. La cible principale de ces molécules est le ribosome, et en particulier sa sous-unité 30S. Cette fixation sur le ribosome conduit à une altération de la synthèse des protéines. Ces molécules induisent également des erreurs de lecture de l'ARN messager provoquant ainsi la synthèse de protéines anormales.

3. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

3.1. Résistance intrinsèque

C'est une résistance naturelle, existant chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Par conséquent, cela fait partie de leur patrimoine génétique normal (**Yala et al 2001**).

Le bacille pyocyanique est naturellement résistant à plusieurs antibiotiques : les pénicillines G, M, A, amoxicilline + acide clavulanique, céphalosporine 1^{er}.2^{eme} et certaines de 3^{eme} génération (cefotaxime, ceftriaxone), les quinolones de 1^{ère} génération, les nitrofuranes, les sulfamides, les tétracyclines, les glycopeptides, l'acide fucidique, la kanamycine, les macrolides et apparentés (**Bouacha et al., 2020**). Cela est dû à la combinaison de plusieurs mécanismes :

3.1.1. Céphalosporinases chromosomiques (AmpC)

Pseudomonas aeruginosa exprime naturellement une céphalosporinase inductible codée par le gène chromosomique *ampC*. Cette enzyme appartient à la classe C d'Ambler. Chez les souches sauvages, *ampC* est réprimé de manière complexe par les produits de ses gènes associés, *ampR* et *ampD*, et n'est que faiblement exprimé (**Barbieri et Wolff, 2010**)

3.1.2. L'oxacilinase PoxB

Une autre β -lactamase naturelle appartenant à la classe D d'Ambler, appelée OXA-50 ou PoxB, a également été identifiée chez *P. aeruginosa*. Toutefois, son rôle dans la résistance naturelle de la bactérie aux β -lactamines reste assez marginal compte tenu de sa faible activité et de son spectre restreint (**Mérens et al., 2011**).

3.1.3. La faible perméabilité de la membrane externe

Toutes les bactéries Gram-négatives ont une membrane externe qui empêche naturellement le passage des grosses molécules hydrophiles. Par conséquent, ceux-ci doivent traverser les porines pour pénétrer les bactéries (**Monlezun, 2013**). Chez *P. aeruginosa*, on distingue OprD (D1 et D2), OprE (E1 et E2), OprF, OprG, et OprH. OprF est la porine majoritaire de *P. aeruginosa* (**Nikaido et al., 1991**). Les porines de *Pseudomonas aeruginosa* présentent une faible perméabilité membranaire (12 à 100 fois inférieure que les autres BGN) (**Hancock, 1998**).

3.1.4. Les systèmes d'efflux

P. aeruginosa exprime plusieurs systèmes d'efflux multidrogue de type RND (Resistance Nodulation cell Division) (**Figure 6**). Les systèmes d'efflux MexA-MexB-OprM et MexX-MexY-OprM participent simultanément aux mécanismes de résistance naturelle et acquise aux antimicrobiens de *P. aeruginosa*, tandis que MexC-MexD-OprJ et MexE-MexF-OprN n'agissent que dans la résistance acquise (**Strateva et Yordanov, 2009**).

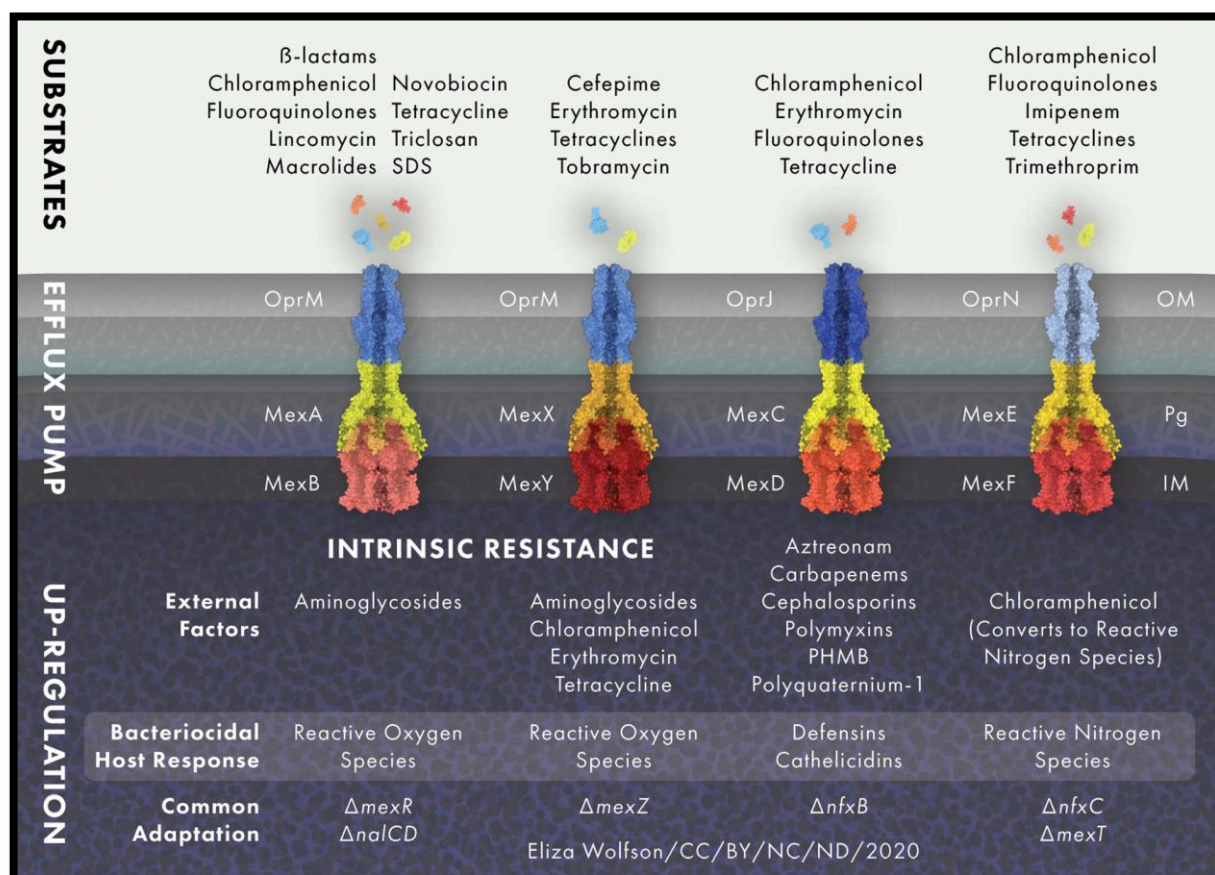


Figure 6: Les pompes d'efflux de la famille RND chez *P.aeruginosa* (**Bolard, 2019**).

3.2. Résistance acquise

Cette résistance ne concerne que quelques souches, d'une même espèce ou d'un même genre, normalement sensibles à un antibiotique donné (**Zomahoun, 2005; Mathur et Singh, 2005 ; Courvalin, 2008**). C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou un groupe d'antibiotiques. Les mécanismes acquis impliquent des mutations dans des gènes chromosomiques et le transfert de déterminants de résistance portés par transposons et d'autres matériels génétiques mobiles.

Chez *P. aeruginosa*, la résistance acquise aux antibiotiques est causée par la surexpression de la céphalosporinase AmpC, la surexpression de pompes à efflux, la production des enzymes acquises tandis que d'autres souches présentent une perméabilité membranaire réduite par altération d'une porine (OprD principalement) ou encore synthétisent des cibles cellulaires ayant perdu toute affinité pour les antibiotiques (cas des fluoroquinolones) (**Mérans et al., 2011**).

3.2.1. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

La résistance aux β -lactamines implique en premier lieu l'expression de β -lactamases. Ces enzymes sont réparties en quatre classes (A à D) selon la classification d'Ambler. En fonction de leurs séquences d'acides aminés. Les enzymes des classes A, C et D possèdent une sérine au niveau de leur site actif tandis que les enzymes appartenant à la classe B requièrent un cation divalent, en général le zinc comme cofacteur, d'où leur nom de métallo enzymes (**Hall et Barlow, 2005**).

3.2.1.1. Résistance enzymatique

❖ La surproduction de l'AmpC chromosomiques

L'expression de gène *ampC*, codant la céphalosporinase naturelle de *P. aeruginosa*, est fortement induite par certaines β -lactamines, notamment l'imipénème, le clavulanate et la céphamycine. Cette surexpression inductible et réversible conférant une résistance à toutes les pénicillines, céphalosporines antipseudomonas ainsi qu'à l'aztréonam. Dans ce cas, seuls les carbapénèmes restent les antibiotiques actifs (**Barbieri et Wolff, 2010**). La régulation de l'expression de la β -lactamase AmpC fait intervenir les gènes *ampR*, *ampD* et *ampG* (**Figure 7**), le gène *ampR* correspond notamment à un activateur transcriptionnel du gène *ampC* qui est inductible en présence de β -lactamines et qui est réprimé par la protéine codée par le gène *ampD* (**Bourahla et Haddache, 2016**).

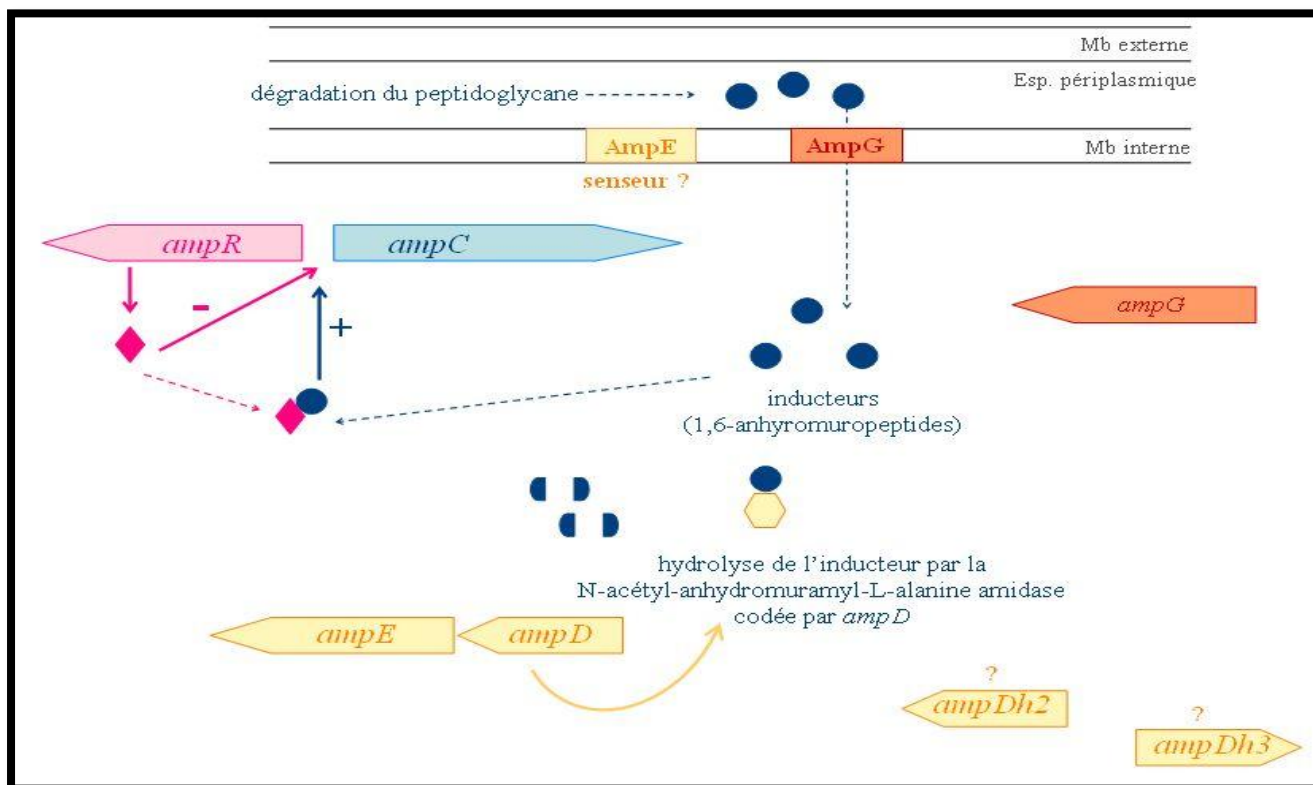


Figure 7: Mécanisme de la régulation de l'expression du gène *ampC* (Vettoretti, 2009).

❖ Les β -lactamases transférables

• Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

C'est une grande famille très hétérogène d'enzymes bactériennes découverte en France et en Allemagne dans les années 1980. La plupart de ces enzymes sont le résultat de mutations des gènes de β -lactamases, en particulier *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-2} et *bla*_{SHV-1}. Les BLSE sont actifs contre les pénicillines, les céphalosporines de première, deuxième et troisième génération (ceftazidime et céfotaxime) et contre l'aztréonam. Les bactéries productrices de BLSE n'hydrolysent pas la céphamycine (céfoxitine) ni les carbapénèmes (imipénème), qui sont bloqués par les inhibiteurs classiques des bêta-lactamases, l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam. (Vora et Auckenthaler, 2009), cinq BLSE de classe A (TEM, SHV, PER, VEB et GES) ont été détectées chez *Pseudomonas aeruginosa* (Wang et al., 2006).

- **β -lactamases de classe D (oxacillinases).**

Les oxacillinases (enzymes de type OXA) appartiennent à la classe moléculaire D et au groupe fonctionnel 2d. Les enzymes OXA classiques (OXA-1, OXA-2, OXA-10) confèrent la résistance aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines mais pas à la ceftazidime. Les oxacillinases à spectre étendu hydrolysant la ceftazidime ont la plus grande importance clinique. Leur spectre d'hydrolyse comprend également : céfotaxime, céfépime, cefpirome, aztréonam et moxalactame, l'activité de ces enzymes n'est pas inhibée par les inhibiteurs de la β -lactamase (**Strateva et Yordanov, 2009**).

- **Les carbapénémases**

Ces enzymes appartiennent aux β -lactamases de classes A, B et D d'Ambler. Cependant, les carbapénémases les plus répandues chez *P. aeruginosa* sont les β -lactamases de classe B également connues sous le nom de métallo- β -lactamases (MBL) en raison de la présence d'un ou deux atome(s) de zinc dans leur site actif. Elles agissent sur une grande variété de β -lactamines à l'exception de l'aztréonam et parfois de la pipéracilline (**Monlezun, 2013**). Les MBL ne sont pas inhibés par l'acide clavulanique ou la tazobactam. Au lieu de cela, ils sont inhibés par les chélateurs d'ions tels que l'EDTA (**Bush et Jacoby, 2010**). Plusieurs types MBL ont été décrits chez *P.aeruginosa* : IMP (active sur l'Imipénème), VIM (Verona-Integron-encoded Metallo- β -lactamases), SPM (Sao Paulo Metallo- β -lactamases), AIM (Australia Imipenemase), GIM (German Imipenemase) et NDM (New Delhi Metallo- β -lactamases) (**Pitout et al., 2005 ; Barir et Ghilani, 2011**). Les MBL les plus fréquemment isolées dans le monde sont les types IMP et VIM (en particulier VIM-2) (**Haouchi, 2018**).

3.2.1.2. Résistance non enzymatique

❖ Surproduction des systèmes d'efflux actif

La surexpression des systèmes d'efflux transmembranaires naturels est un mécanisme majeur de la multirésistance chez *P. aeruginosa*. Les mutations affectant la pompe d'efflux MexAB-oprM sont le plus souvent associées à la résistance aux β -lactamines. Le système combine une pompe (MexB), une lipoprotéine liée à la membrane (MexA) et une porine (oprM) à travers laquelle les antibiotiques sont expulsés des cellules. La surexpression de MexAB-oprM réduit la sensibilité à la ticarcilline, à l'aztréonam et au méropénème, tandis que l'imipénème n'est pas un substrat pour la pompe MexB (**Barbier et Wolff, 2010**). La surexpression du système MexXY/OprM entraîne une résistance accrue aux céphalosporines zwitterioniques (céfépime,

cefpirome), aux aminoglycosides (gentamicine, amikacine) et aux fluoroquinolones (**Mérens et al. 2011**).

❖ Résistance par altération de la perméabilité membranaire

Les β -lactamines doivent traverser la membrane externe par des canaux protéiques transmembranaires appelés porines. Les carbapénèmes ont la particularité d'utiliser un canal spécifique appelé OprD, contrairement aux autres β -lactamines qui utilisent la voie des porines OprF (**Trias et Nikaido, 1990**). De nombreuses mutations trouvées dans les souches cliniques ont entraîné la perte d'*oprD* et une augmentation de 4 à 16 fois de la résistance aux carbapénèmes, tandis que les CMI des autres β -lactamines sont restées inchangées (**Monlezun, 2013**).

3.2.2. Mécanismes de résistance aux aminosides

3.2.2.1. Les enzymes modificatrices des aminosides

Un certain nombre d'aminoglycosides, dont la tobramycine, la gentamicine et l'amikacine, ont été traditionnellement utilisés pour traiter les infections liées à *P. aeruginosa*, en particulier chez les patients atteints de fibrose kystique (**Poole, 2011**). *Pseudomonas aeruginosa* a acquis plusieurs gènes de résistance aux aminoglycosides qui sont portés par des éléments mobiles (intégrons, plasmides ou transposons) et sont souvent associés à la résistance aux β -lactamines et aux quinolones (**Ramirez et Tolmasky, 2010**). Le mécanisme le plus courant consiste à la production d'enzymes stéréospécifiques qui modifient la fonction -NH₂ ou -OH sur les molécules d'aminosides, les empêchant de se lier aux ribosomes (**Biquand, 2017**).

Trois types d'enzymes ont été décrites chez le bacille pyocyanique (**Figure 8**): la N-aminoacétyltransférase (AAC), qui catalyse l'acétylation des groupements NH₂, la O-phosphotransférase (APH) et le mononucléotide transférase (ANT), qui permettent la phosphorylation et les fonctions nucléotidiques de -OH, respectivement. Les AAC contribuent à la résistance de cette espèce à la plupart des aminoglycosides utilisés en thérapie (gentamicine, tobramycine, nétilmicine et amikacine) (**Poole, 2005**). Les APH augmentent, le niveau de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à la kanamycine, streptomycine et à la néomycine. Enfin, les ANT confèrent une résistance à la streptomycine, la spectinomycine, la gentamicine et la tobramycine (**Poole, 2005**).

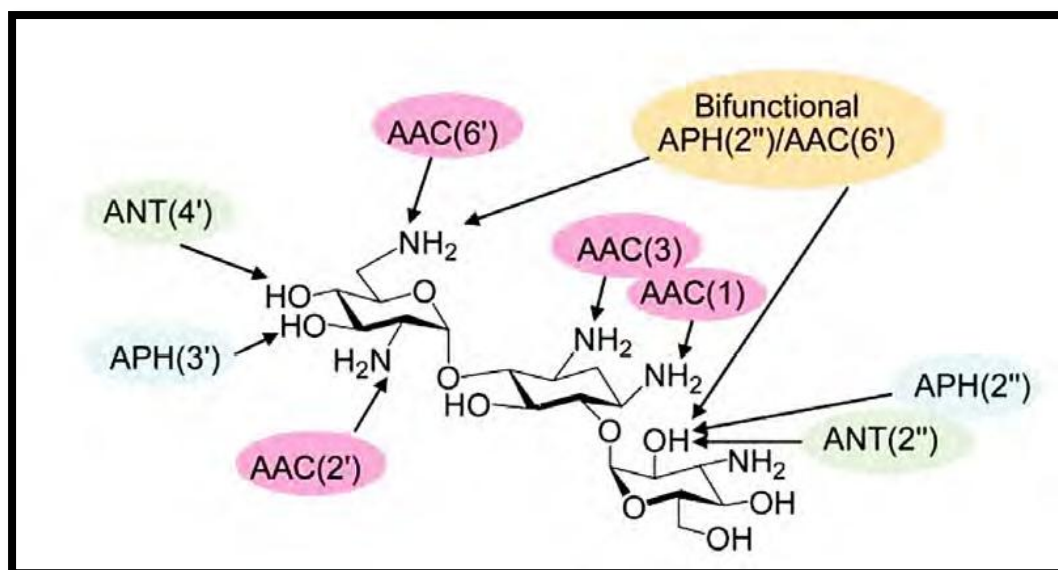


Figure 8: Illustration des sites modifiés par les enzymes modificateuses des aminosides (Hainrichson *et al.*, 2008).

La résistance non enzymatique aux aminoglycosides chez *P. aeruginosa* implique des mécanismes (Figure 9) tels que des altérations de la cible des aminoglycosides, des modifications membranaires et/ou une surproduction de la pompe à efflux MexXY(OprM) (Bolard, 2019).

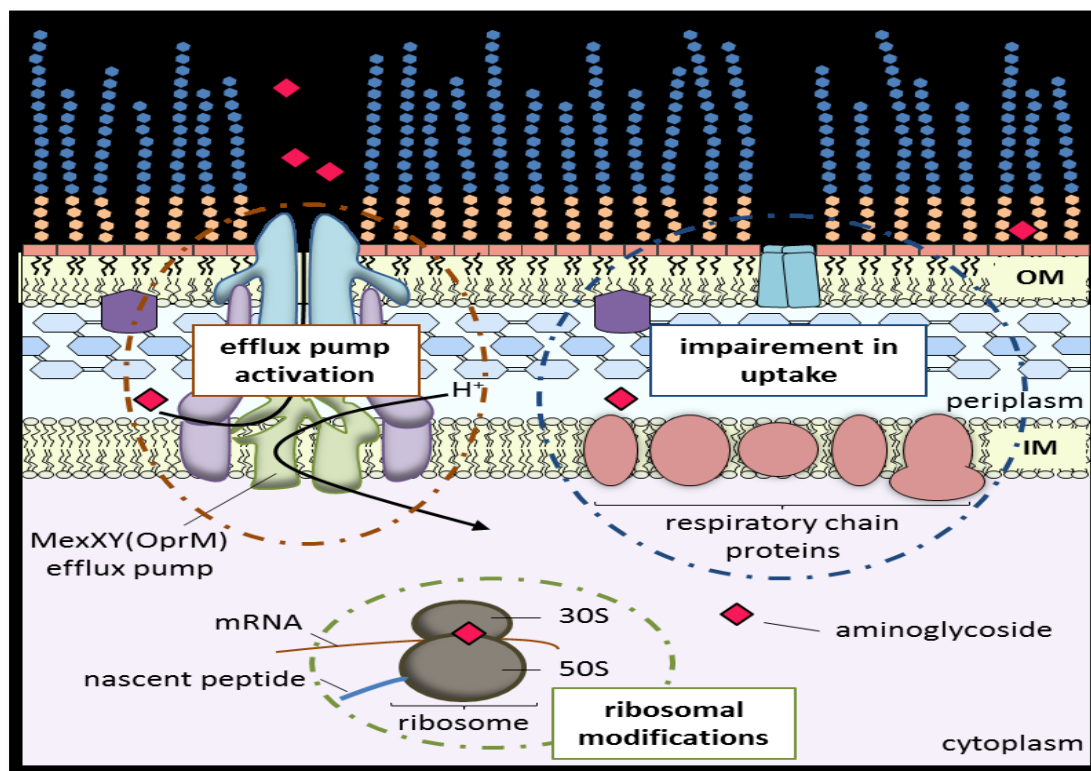


Figure 9: Représentation schématisques des mécanismes de résistance non enzymatique aux aminosides développés par les cellules planctoniques de *P.aeruginosa* (Bolard, 2019)

3.2.2.2. Résistance par efflux actif

Le mécanisme d'efflux actif MexXY/OprM est la principale cause de résistance non enzymatique aux aminosides chez *P. aeruginosa*, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose (Mérens *et al.* 2011). MexXY(OprM) est une pompe à efflux (Figure 10) appartenant à la famille RND qui utilise le gradient de protons présent dans MI pour pomper des molécules de substrat en échange de protons H⁺ (Masuda *et al.* 1996).

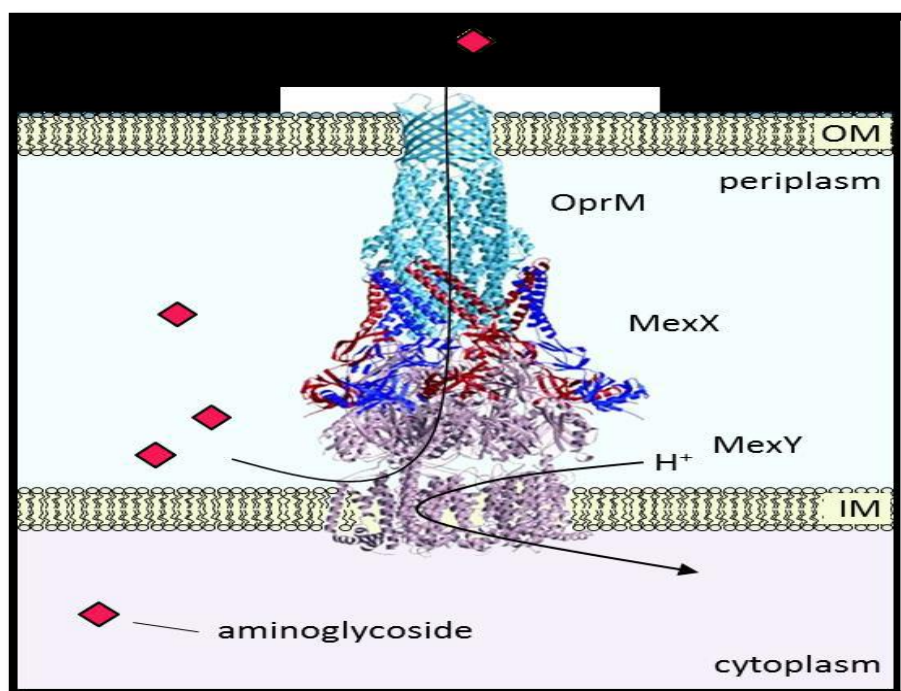


Figure 10: Structure de la pompe à efflux RND MexXY (OprM) de *P.aeruginosa* (Bolard, 2019).

3.2.2.3. Résistance par modification des lipopolysaccharides membranaires

Le LPS de *P. aeruginosa* est composé de trois domaines : l'oligosaccharide central, la partie lipide A et la région de l'antigène O (Gellatly et Hancock, 2013).

Le passage des aminosides à travers la membrane externe se fait par la bicouche lipidique plutôt que par la voie des porines, comme c'est le cas pour la plupart des autres antibiotiques (β -lactamines, fluoroquinolones, tétracyclines...). En effet, les aminosides établissent des interactions électrostatiques avec les LPS qui constituent la couche externe de cette membrane asymétrique. Grâce à leurs nombreuses charges électropositives (3 à 5) les aminosides se fixent sur les groupements phosphate et pyrophosphate du core et, de ce fait, déplacent les

ions Ca^{2+} et Mg^{2+} qui assurent normalement la cohésion entre les molécules adjacentes de LPS (Hancock et Wong 1984 ; Rocchetta *et al.* 1999).

La modification structurale des LPS peut être à l'origine d'une résistance de bas niveau aux aminosides. En effet, chez le mutant FE49, dérivant de la souche PAO1, les molécules de LPS sont privées de leur partie polysaccharidique et d'une partie du core ce qui tend à diminuer les charges électronégatives avec lesquelles les aminosides interagissent pour franchir la membrane externe (El'Garch *et al.* 2007). Il en résulte alors une augmentation du niveau de résistance aux aminosides d'un facteur de 2 comparativement à la souche PAO1 (El'Garch *et al.* 2007).

3.2.2.4. Résistance par méthylation de l'ARN16S

La méthylation ribosomale, un mécanisme de protection développé par les organismes producteurs d'aminosides (actinomycètes), s'effectue sur le résidu G en position 1405 de l'ARN16S au niveau du site A (Galimand *et al.* 2003). Récemment, la méthylation de l'ARNr 16S est apparue comme un nouveau mécanisme de la résistance aux aminoglycosides parmi les agents pathogènes à Gram négatif telle que *P. aeruginosa*, capable de modifier non pas l'aminoside mais la structure ribosomale sur lequel il se fixe, l'ARN 16S (Sefraoui, 2015).

Chez le bacille pyocyanique, elle est due à l'acquisition du gène *rmtA* codant pour une méthylase d'ARNr 16S. La méthylation de l'ARN 16S par ces enzymes entraîne une résistance à la gentamicine, la tobramycine, l'amikacine, l'isépamycine et l'arbécacine (Biquand, 2017). Il semble que le gène *rmtA*, porté par un transposon situé sur un plasmide conjugatif, ait diffusé à partir des actinomycètes (Yokoyama *et al.*, 2003).

3.2.3. Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones

Les principaux mécanismes de résistance de *P. aeruginosa* aux quinolones sont la modification des enzymes cibles, l'ADN gyrase (*gyrA*) et la topoisomérase IV (*parC*), ou la réduction de la concentration intracellulaire due à des mutations dans les gènes régulateurs des systèmes d'efflux, tels que *mexR* et *nfxB* (Zidoune et Benbelkacem, 2020).

3.2.3.1. Résistance par altération des cibles (QRDR)

La résistance de *P. aeruginosa* aux fluoroquinolones est principalement liée à des mutations dans les gènes codant les cibles de quinolones l'ADN gyrase ou l'ADN topoisomérase IV, au

niveau d'une région nommée *Quinolone Resistance Determining Region* (QRDR) (**López-Causapé et al., 2018; Oliveira et al., 2020**).

La résistance à la ciprofloxacine dans cette espèce est exclusivement chromosomique (**Barbier et Wolff, 2010**). Les mutations les plus fréquemment observées sont la substitution d'un acide aminé en position 83 dans *GyrA* de la thréonine à l'isoleucine et une substitution d'acide aminé de la sérine à la leucine en position 87 dans *ParC*. La deuxième mutation la plus courante est la position 87 de *GyrA*, où la tyrosine est remplacée par l'asparagine, la glycine ou la tyrosine (**Langendonk et al., 2021**).

3.2.3.2. Résistance par efflux actif

Quatre systèmes d'efflux ont été largement décrits chez *P. aeruginosa* : MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN et MexXY/OprM. Toutes ces pompes peuvent accueillir des fluoroquinolones, bien que chacune dispose d'un pool d'antibiotiques substrats préférentiels (**Monlezun, 2013**).

En l'absence de mutations des cibles de quinolones, La surproduction des pompes d'efflux MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ et MexEF-OprN est à l'origine d'une résistance modérée aux fluoroquinolones ainsi qu'à d'autres classes d'antibiotiques (**Sefraoui, 2015**).

Le niveau élevé de résistance du bacille pyocyanique pour cette classe d'antibiotiques résultera donc de l'action conjointe des différentes pompes d'efflux causée par les mutations *nalB*, *nfxB* et *nfxC* associée aux mutations sur les enzymes cibles (**Monlezun, 2013**).

3.2.4. Mécanismes de résistance à la colistine

La résistance acquise à l'encontre de la colistine est due à des mutations d'origine chromosomique ou plasmidiques. Le mécanisme le plus courant est la diminution de la charge négative globale du LPS repoussant ainsi les molécules de polymyxines. En effet, la fixation de la colistine au niveau de la membrane externe est rendue possible grâce à des interactions électrostatiques entre le polycation et les groupements négatifs portés par les molécules de LPS. Par un mécanisme similaire à celui utilisé par les aminosides, la colistine franchit la membrane externe puis s'insère dans la membrane cytoplasmique créant une fuite des composés cellulaires et un arrêt de la respiration cellulaire fatal pour la bactérie (**Vettoretti, 2009**).

Un système de modification des LPS, homologue à PmrA-PmrB, a été mis en évidence chez des mutants spontanés de *P. aeruginosa* résistants à la polymyxine B. L'activation du système PmrA-PmrB, régulant les loci PA3552 à PA3559, entraîne l'ajout d'un 4-amino-arabinose sur le groupement phosphate du lipide A. cette modification empêche la pénétration de l'antibiotique dans la cellule bactérienne (McPhee *et al.* 2003 ; Moskowitz *et al.* 2004).

Fin 2015, une équipe chinoise a montré pour la première fois l'existence d'un gène de résistance à la colistine porté par un plasmide chez les souches *E. coli* et *K. pneumoniae* (Liu *et al.*, 2016). Il s'agit du gène *mcr-1* codant pour une phosphoéthanolamine transférase qui catalyse l'addition de pEtN sur le lipide A, provoquant une baisse d'affinité de la colistine pour le LPS comme pour les résistances chromosomiques. L'acquisition de ce gène confère un bas niveau de résistance à la colistine, difficilement détectable par les méthodes de diffusion en milieu gélosé.

Il a rapidement été montré que le gène *mcr-1* est présent sur quasiment tous les continents (Asie, Europe, Afrique, Amérique du Nord) et de façon ubiquitaire puisque porté par des bactéries retrouvées chez l'Homme, les animaux, dans les denrées alimentaires et l'environnement (*Enterobacter spp*, *Salmonella spp*, *Shigella...*) (Wang *et al.*, 2017).

D'autres variants du gène *mcr-1* ont été identifiés : *mcr-2*, 3, 4, 5, 6, 7 et *mcr-8* (Xavier *et al.*, 2016 ; Yin *et al.*, 2017 ; Carattoli *et al.*, 2017 ; Borowiak *et al.*, 2017 ; AbuOun *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2018). Ces résistances plasmidiques suggèrent la possibilité d'acquisition et de diffusion rapide de cette résistance, à l'instar de ce qui est connu pour d'autres mécanismes plasmidiques de résistance.

3.3 Biofilm

La diminution de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries formant des biofilms est vraisemblablement due à la combinaison de plusieurs mécanismes (Walters *et al.*, 2003). Mais il reste encore de nombreux mécanismes mal compris. La formation d'un biofilm, ou la production d'une quantité massive d'alginate (polymère d'acide D-mannuronique et d'acide L-guluronique) par les souches de *P. aeruginosa* crée une barrière permettant aux bactéries de persister et de se protéger des défenses immunitaires de l'hôte et l'action bactéricide des antibiotiques (Costerton *et al.*, 1999).

Plusieurs études ont rapportées que les fluoroquinolones, comme l'ofloxacine et la ciprofloxacine, pénètrent les biofilms de *P. aeruginosa* facilement tandis que les aminoglycosides, tels que la tobramycine et la gentamicine, diffusent plus lentement. Ces

études suggèrent que la liaison des aminosides chargés positivement aux polymères extracellulaires de matrice du biofilm à charge négative, tel que l'alginate, retarde la pénétration de ces agents (**Stewart, 2002**). Bien que cela puisse être le cas de certains agents antimicrobiens, il a été montré que pour d'autres, ils peuvent pénétrer la matrice mais ne peuvent pas tuer les cellules dans le biofilm (**Walters, et al., 2003**) Les souches de *P. aeruginosa* formant un biofilm sont beaucoup plus résistantes à la tobramycine que les souches vivant à l'état planctonique (**Nickel et al., 1985**). Alors qu'une autre étude suggère que la formation de biofilms peut être une réaction spécifique, défensive, induite par la présence d'antibiotiques tels que les aminoglycosides (**Hoffman et al., 2005**).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans cette étude les 12 articles rapportant des données phénotypiques et moléculaires sur des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes aux antibiotiques, isolées de différentes régions d'Algérie, ont été analysés (**Tableau 6**).

Tableau 6: Articles analysés

Articles et Lettres à l'éditeur	Auteurs et année	Période d'étude	Lieu d'étude	Services concernés	Types de prélèvement	Les méthodes utilisées
1. Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux β-lactamines des souches cliniques de <i>P. aeruginosa</i> : première étude en Algérie	Drissi <i>et al.</i> , 2008	De novembre 2005 à février 2007	CHU de Tlemcen (Algérie).	ICU chirurgicaux Traumatologie ICU neurochirurgicaux La chirurgie Divers	/	- Etest (CMI) - Test de Hodge - Extraction d'ADN par ébullition - PCR - Séquençage - Focalisation isoélectrique - RAPD - Sérotypage par agglutination sur lame
2. Dissemination of a class I integron carrying VIM-2 Carbapenemase in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates from a hospital intensive care unit in Annaba, Algeria	Touati <i>et al.</i> , 2013	Décembre 2010 à Septembre 2011	CHU d'Annaba, Algérie	unité de soins intensifs chirurgicaux	- Aspiration bronchique - Sang - Cathéter urinaire - Pus - Plaie - Urine	- Antibiogramme - Etest (CMI) - Test de synergie - Test imipénème-EDTA - PCR - Séquençage - MLST
3. Molecular Epidemiology of Carbapenem Resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Clinical Strains Isolated from Western Algeria Between 2009 and 2012	Sefraoui <i>et al.</i> , 2014	Octobre 2009 à Novembre 2012.	3 CHU de l'Ouest algérien (Tlemcen, Sidi Bel Abbas et Oran).	- Les soins intensifs - La chirurgie - La neurochirurgie - La traumatologie - Urgence - Médecine interne	- Aspiration trachéale - Plaies - Voies urinaires	- API 20NE - MALDI-TOF - Antibiogramme - Etest (Détection des MBL) - Test à la cloxacilline - Test de synergie à double disque - Test de disque combiné - Extraction d'ADN - PCR

						<ul style="list-style-type: none"> - Séquençage - MLST
<p>4. Epidemiology of carbapenem non-susceptible <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolates in Eastern Algeria</p>	Meradji <i>et al.</i> , 2015	Janvier 2012 à Décembre 2013	Hôpital Ibn Sina, Hôpital Dorban et Hôpital Ibn Rochd (Annaba)	/	<ul style="list-style-type: none"> - Le sang - L'urine - liquide de lavage barnchéo-alvéolaire - aspiration endotrachéale - pus aspiré - liquide de drainage 	<ul style="list-style-type: none"> - API 20NE - Antibiogramme - Etest - Test de Hodge modifié - Test Imipénème-EDTA à disque combiné - Test de synergie à double disque - Test à la cloxacilline - Extraction d'ADN par ébullition - PCR - Séquençage - Electrophorèse en champ pulsé
<p>5. Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in <i>Enterobacter cloacae</i></p>	Bouguenoun <i>et al.</i> , 2016	de janvier et décembre 2014	Hôpital Ibn-Zohr et Hôpital El-Hakim Okbi (Guelma)	<ul style="list-style-type: none"> -Chirurgie générale -Maladies infectieuses -Pédiatrie 	<ul style="list-style-type: none"> - Pus - L'urine 	<ul style="list-style-type: none"> - Coloration de gram - Test oxydase - API 20E/ API 20NE - MALDI-TOF - Antibiogramme - Etest - Test de Hodge - Test Carba NP modifié - Test imipénème –EDTA - PCR et PCR en temps réel - Séquençage - MLST
<p>6. Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-</p>	Meradji <i>et al.</i> , 2016	Avril 2014 à janvier 2015.	l'hôpital Ibn Sina Annaba (Algérie)	service de brûlures adultes à l'échelle de l'État unité	Ecouvillonnage de surfaces brûlées	<ul style="list-style-type: none"> - Antibiogramme - Etest - Test de Hodge

lactamase-producing <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolated from burn patients in eastern Algeria						<ul style="list-style-type: none"> - Test Imipénème -EDTA à disque combiné - Test de synergie à double disque - Test à la cloxacilline - Extraction d'ADN par ébullition - PCR - Séquençage - Electrophorèse en champ pulsé
7. Phenotypic detection methods of metallo-β-lactamases - producing <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains isolated in urology ward from Skikda hospital Algeria	Mellouk et Meradji , 2017	avril 2014 et avril 2016.	l'hôpital de Skikda (Algérie).	Urologie	L'urine	<ul style="list-style-type: none"> - API 20NE - MALDI-TOF - Antibiogramme - Etest - Test de Hodge - Test de Carba NP modifié - Test Imipénème -EDTA à disque combiné - Test de synergie à double disque
8. Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria	Bourafa <i>et al.</i> , 2018	entre juillet et septembre 2015	Hôpital d'Annaba	Urologie Pédiatrie	L'urine	<ul style="list-style-type: none"> - API 20E et API 20NE - MALDI-TOF - Antibiogramme - Etest - Test Carba NP modifié - Test de Hodge - Test Imipénème-EDTA - Extraction d'ADN - PCR et PCR en temps réel - Séquençage - MLST
9. Occurrence of VIM-4 metallo-β-lactamase-	Merradi <i>et al.</i> , 2019	Janvier 2015à décembre	CHU de Batna (Nord-Est algérien)	-Service des brûlés -Neurochirurgie - Soins intensifs	-Pus -Sang -Liquide cérébro-	<ul style="list-style-type: none"> - Test oxydase - API 20NE - MALDI-TOF

<p>producing <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in an Algerian hospital</p>		2016		<ul style="list-style-type: none"> - Hématologie -Médecine interne -Traumatologie -Endocrinologie - Néphrologie -Cardiologie -Pédiatrie -Urgence -Médecine légale -Orthopédie - Chirurgie -Externe -Garderie 	<ul style="list-style-type: none"> spinal -Aspiration trachéal -Urine -Cathéter -Fluide pleural -Ecouvillonnage de la gorge -Cathéter vésical -Ascite -Adénite -Plaie -Autre 	<ul style="list-style-type: none"> - Antibiogramme - Test de Hodge - Test de synergie à double disque - PCR - Séquençage - Electrophorèse en champ pulsé - MLST
<p>10. Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacine or ciprofloxacin against <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>P.aeruginosa</i> carbapenem-resistant isolated in Annaba hospital Algeria</p>	Meliani <i>et al.</i> , 2020	De Septembre 2015 à Avril 2017	Hôpital d'Annaba	<ul style="list-style-type: none"> Brulés ICU Endocrinologie Urologie 	<ul style="list-style-type: none"> - Pus - urine - Sites opératoires - Dérivé protéique purifié (tuberculine) 	<ul style="list-style-type: none"> - API 20NE - MALD-TOF - Antibiogramme - Macrodilution en bouillon (CMI) - Test de Hodge - Test Imipénème-EDTA - PCR et PCR en temps réel - Séquençage
<p>11. Emergence Of Plasmid Mediated Colistin Resistance Gene Mcr-1 In Carbapenem-Resistant <i>P.aeruginosa</i></p>	Addouda <i>et al.</i> , 2020	Octobre 2016 à Octobre 2017	CHU de BATNA - Algérie.	<ul style="list-style-type: none"> - Les brulés - ICU 	<ul style="list-style-type: none"> -Pus - Aspiration trachéal - Cathéter -Gale - Les surfaces 	<ul style="list-style-type: none"> - Analyse microscopique - Test oxydase - API 20NE - Antibiogramme - Technique de microdilution (CMI) - Tests à base de chélateur

Clinical Isolates From Algeria: A New Successful Resistance Combination Toward A Therapeutic Impasse?						(CDT) - Colispot - Test de Hodge - Test Carba NP modifié - Test de synergie à double disque - PCR - Séquençage
12. Characterization of antibiotic resistance profiles in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolates from burn patients	Tchakal-Mesbahi <i>et al.</i> , 2021	Avril 2016 à octobre 2019	l'hôpital militaire d'Alger (Algérie).	le Département de Brûlures	- Écouvillonnage de surfaces brûlées	- Test oxydase - Fermentation du lactose - API 20E - Test de synergie double disque imipénème-EDTA - Test de synergie à double disque - Extraction d'ADN par ébullition - PCR - ERIC PCR

1. Isolement

L'isolement de souches hospitalières de *P. aeruginosa* a été réalisé sur différents milieux sélectifs comme la gélose MacConkey et la gélose au cétrimide.

2. Identification

L'identification des souches a été réalisée par galeries API 20NE et API 20E et confirmée par le spectromètre de masse MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight mass Spectrometry Method).

2.1. Galerie API 20NE et API 20E

Les galeries API 20E et API 20 NE sont constituées de 20 microtubes contenant des milieux et substrats sous forme déshydratée. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Sefraoui, 2015 ; Ayad, 2017).

2.2. MALDI-TOF

Le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol. La méthode MALDI-TOF s'applique aux biomolécules fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides. L'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt (ou spot) formé est appelé cible.

Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre (Sefraoui, 2015).

3. Etude de la résistance aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Antibiogramme), par la méthode de dilution en milieu gélosé Mueller Hinton (CMI) , par microdilution dans le bouillon Mueller Hinton (CMI) et par Etest (CMI) selon les

recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) pour les articles **1, 2, 3, 5** et **7**; et selon les directives de l'Institut des Standard Cliniques et de Laboratoire (CLSI) pour les articles **4,6, 9, 10** et **11**; et selon les recommandations du Comité européen de l'antibiogramme (EUCAST) pour les articles **8** et **12**.

Les antibiotiques testés dans la majorité des articles analysés sont les suivants : Ticarcilline (TIC), Ticarcilline/Acide clavulanique (TCC), Pipéracilline (PRL ou PIP), Pipéracilline/tazobactam (TAZ), Imipénème (IMP), Ceftazidime (CAZ,CDZ), Céfipime (FEP), Aztréoname (AZT), Ciprofloxacine (CIP), Gentamycine (GEN), Amikacine (AMK), Tobramycine (TOB) et la Colistine (COL).

D'autres antibiotiques ont été testés seulement dans quelques articles. Il s'agit de l'ertapénème (ETP) et méropénème (MEM) testés dans l'article **12** ; de la fosfomycine (FOS) testé dans les articles **2, 5** et **8** ; de l'Amoxicilline (AMX), Amoxicilline/Acide clavulanique (AMC) et Cefoxitine (FOX) dans les articles **5** et **12** ; Levofloxacine (LEV) dans les articles **6, 9** et **12** ; Nitilmycine (NT) dans les articles **7** et **9** ; de la rifampicine (RIF) dans l'article **5** et enfin le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (TMP/SMX), Nitrofurantoïne (NFN) et Tigécycline (TGC) dans l'article **12**.

4. Détection phénotypique des β -lactamases

4.1. Recherche de la production des carbapénémases

4.1.3. Le test de Hodge (HT)

Le test de Hodge est la méthode actuellement recommandée par le CLSI comme méthode phénotypique de détection de la production de carbapénémases. Elle est basée sur l'inactivation d'un carbapénème par une souche productrice de carbapénémase permettant à une souche contrôle (sensible à l'antibiotique) de prolonger sa croissance vers le disque contenant l'antibiotique, au long de la strie de l'inoculum de la souche testée (Vallée, 2015).

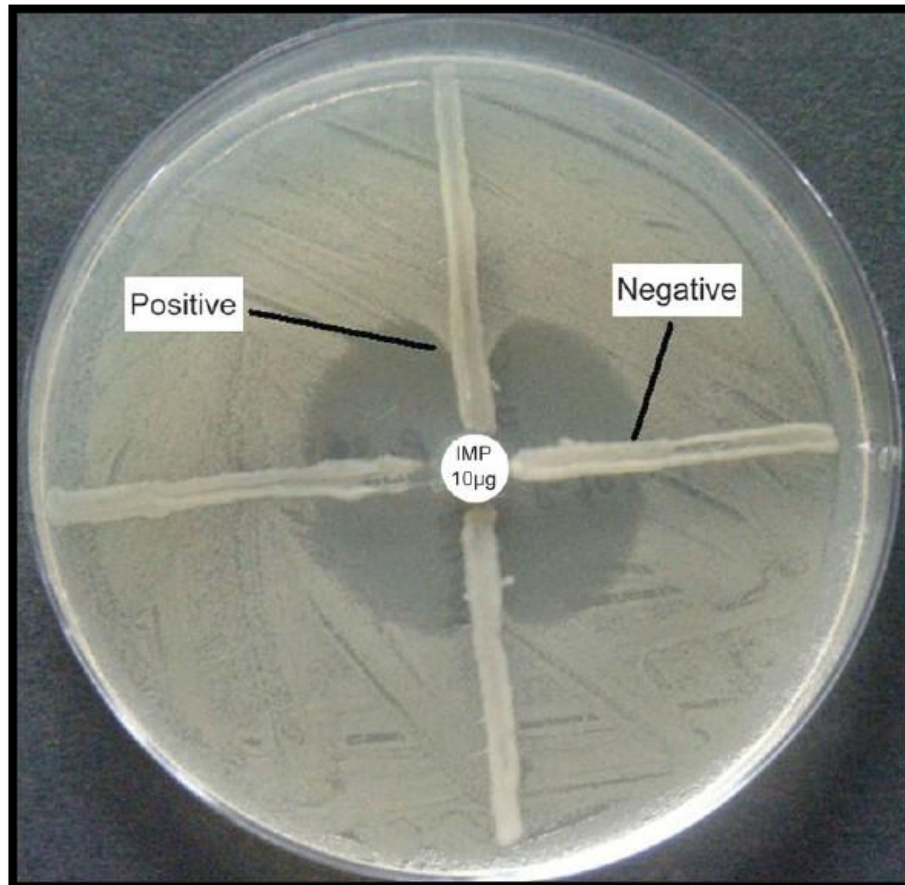


Figure 11: Test de Hodge montrant un résultat positif et négatif (<https://m.20-bal.com/law/19378/index.html>)

4.1.4. Test Imipénème-EDTA

La recherche des métallo- β -lactamases (M β LS) a été effectuée sur les souches résistantes à l'IPM en mettant à profit la faculté de l'éthylène-diamin-tetra-acetic-acid (EDTA), chélateur bivalent à restaurer l'activité de l'IPM en chélatant les ions Zn^{2+} indispensables à l'activité de la MBL et la rendant ainsi inactive (Sefraoui, 2015). Deux techniques phénotypiques ont été réalisées afin de rechercher la présence probable de M β LS:

➤ Méthode des disques combinés (CDT)

Deux disques d'imipénème (10 μ g) sont déposés suffisamment distant sur la même boîte de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton préalablementensemencée avec la souche à tester, l'un comme témoin et sur l'autre un volume de 5 μ l de solution d'EDTA (750 μ g d'EDTA) est ajouté. En outre, 5 μ l de la solution d'EDTA est ajouté sur un disque vierge (témoin négatif) (Figure 12). Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont mesurés et

comparés après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul d'au moins 6 mm sont considérées comme souches productrices de MβL (Lee *et al.* 2003).

➤ Méthode EDTA-disque synergie (DDST)

Le test de l'EDTA-disque synergie est réalisé en utilisant un disque d'imipénème (10μg) et un disque vierge imbibé avec 10 μl de solution d'EDTA (1500μg d'EDTA) distant de 15mm (bord à bord) (**Figure 12**). Après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C, la présence d'une MβL est détectée par la visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (Jeong *et al.* 2006

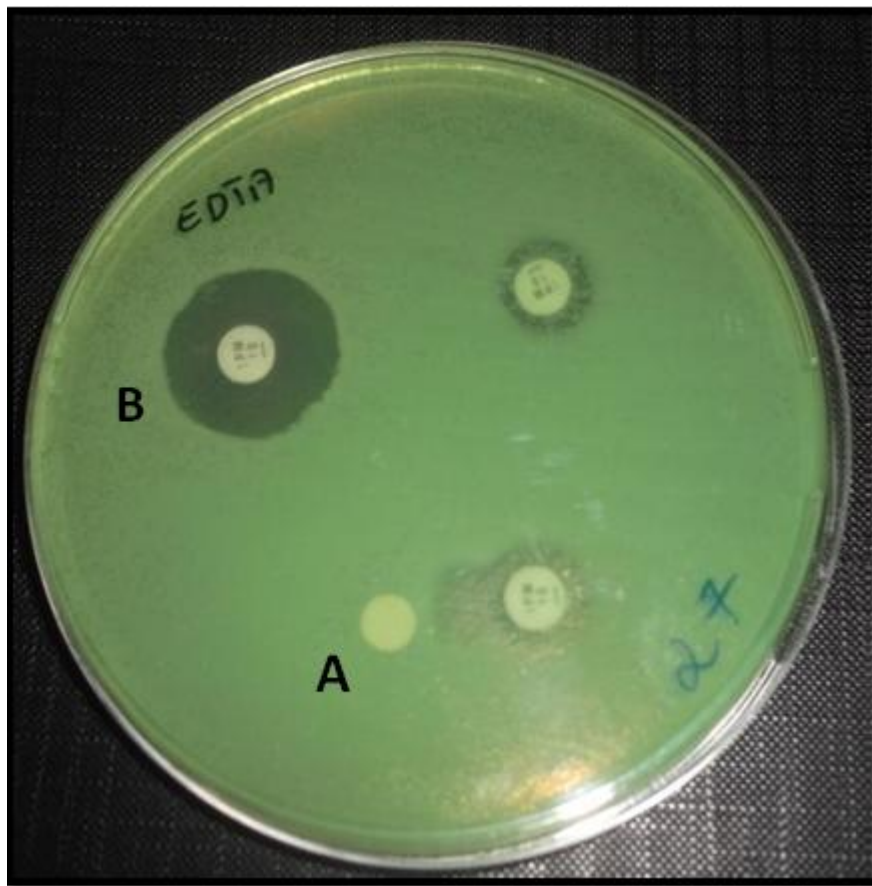


Figure 12: A: Test de synergie EDTA-IMP; B: Test des disques combinés (CDT) pour une souche de *P.aeruginosa* productrice de MβL (Meradji, 2017)

4.1.5. Le test Carba NP

Le Carba NP test est une méthode biochimique colorimétrique de détection des carbapénémases. Ce test met en évidence l'acidification du milieu grâce à un indicateur coloré lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur coloré, le rouge de phénol, vire au jaune lors de l'hydrolyse de l'imipénème par production d'acide et donc diminution du pH (Nordman et Poirel, 2015).



Figure 13: Test Carba NP: (droite) négatif; (gauche) positif (Dallenne *et al.*, 2015).

4.2. Recherche de la production des BLSE et des céphalosporinases

4.2.1. Test de synergie

Cette technique est utilisée pour la détection phénotypique de la production de β -lactamases à spectre étendu. Sur gélose Mueller-Hinton, des disques de céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) et de 4^{ème} génération (C4G) sont placés à 2 cm d'un disque de ticarcilline + acide clavulanique (Jarlier *et al.*, 1988). La présence d'une BLSE est caractérisée par la description d'une image de synergie en « bouchon de champagne » en raison de l'effet inhibiteur de l'acide clavulanique (Sirot, 1996).

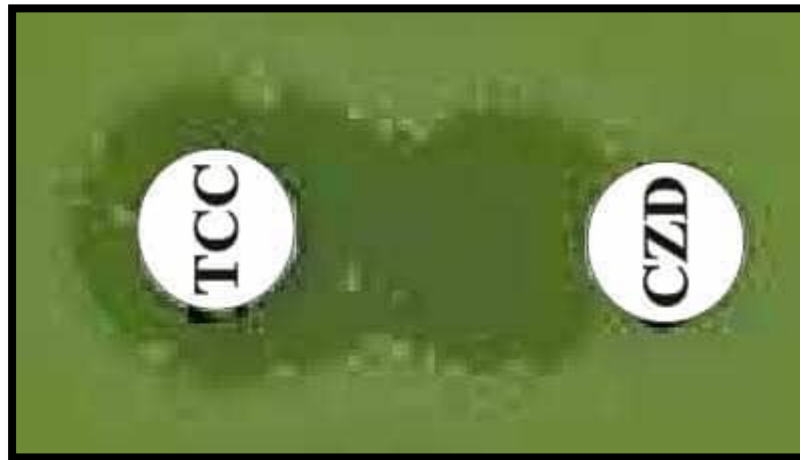


Figure 14: Image de synergie signifiant la présence d'une BLSE (<https://m.20-bal.com/law/19378/index.html>). TCC : Ticarcilline /Acide clavulanique ; CZD : Ceftazidime.

4.2.2. Test à la cloxacilline

Pour certaines souches de bacille à Gram négatif, il est difficile de distinguer sur l'antibiogramme habituel l'hyperproduction de céphalosporinases des β -lactamases à spectre élargi (BLSE). En cas d'hyperproduction de céphalosporinases, les diamètres autour des disques de C3G très diminués peuvent masquer les images de synergies indicatrices de BLSE. Un antibiogramme sur Mueller-Hinton additionné de la cloxacilline qui inhibe in vitro les céphalosporinases de la classe C d'Ambler chromosomiques et les céphalosporinases plasmidiques permet de restaurer l'activité des céphalosporines de troisième génération et de confirmer le phénotype céphalosporinase (DeChamps, 2002; Naas, 2003).

5. Détection et identification des gènes de résistance aux antibiotiques

5.1.Extraction de l'ADN bactérien : méthode rapide par ébullition

L'extraction d'ADN est réalisée par choc thermique. Une suspension bactérienne en eau pure est préparée à partir de colonies bactériennes jeunes sur milieu Mueller-Hinton puis centrifugée. Le culot repris dans l'eau pure a été porté à ébullition pendant 10 min, puis refroidi 10 min dans la glace. Après une dernière centrifugation le surnageant, contenant l'ADN bactérien, a été recueilli et conservé à basse température (Ayad, 2017).

5.2.Réaction de Polymérase en Chaîne (PCR) standard

La PCR (Réaction de Polymérase en Chaîne) est une méthode d'amplification génique *in vitro*, qui permet de copier en grand nombre une séquence d'ADN connue présente dans un échantillon même en très faible quantité. Les réactions d'amplifications des gènes codant pour la résistance aux β -lactamines, aminosides et quinolones sont réalisées avec des couples d'amorces spécifiques (Ayad, 2017).

5.3.Electrophorèse et révélation

Après amplification, les produits de PCR obtenus sont mélangés au tampon de charge et soumis à une migration. Un marqueur de poids moléculaire est déposé dans le gel en même temps que les échantillons. Le gel d'électrophorèse est coloré dans un bain de bromure d'éthidium avant révélation sous ultra-violets (Ayad, 2017).

5.4.Séquençage

La technique de séquençage permet la synthèse interrompue d'ADN simple brin, à partir d'une amorce hybridée sur la matrice d'ADN à séquencer. Cette synthèse est faite par l'ADN polymérase en présence des quatre 2'- désoxyribonucléoside-5'-triphosphates (dATP, dCTP, dGTP et dTTP) et des quatre 2',3'- didésoxyribonucléoside-5' triphosphates (ddATP*, ddCTP*, ddGTP* ou ddTTP*) marqués chacun par un fluorochrome distinct (Sanger *et al.*, 1977).

Les séquences nucléotidiques obtenues sont analysées grâce aux différents logiciels : BLAST et ARG-ANNOT.

5.5.Typage moléculaire des souches multirésistantes

Afin de mettre en évidence une éventuelle clonalité entre les souches multirésistantes, quatre techniques de typage moléculaire ont été réalisées : le typage par ADN polymorphe amplifié aléatoire (RAPD) pour l'article 1 ; l'électrophorèse en champ pulsé pour les articles 4, 6, 9 ; le typage par séquençage multilocus (MLTS) pour les articles 2, 3, 5, 8, 9.

5.5.1. Typage par ADN polymorphe amplifié aléatoire (RAPD)

Également connu sous le nom de réaction en chaîne par polymérase à amorçage arbitraire (AP-PCR), c'est une technique adaptée à la détection rapide du polymorphisme génomique. La technique est basée sur l'amplification de l'ADN génomique avec une ou plusieurs amorces

oligonucléotidiques courtes d'une séquence arbitraire ou aléatoire. Le nombre et l'emplacement de ces sites d'amorces aléatoires varient pour différentes souches d'une espèce bactérienne. Il résulte donc de la séparation des produits d'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose un motif de bandes qui, en théorie, est caractéristique de la souche bactérienne considérée (**Krawczyk et Kur, 2018**).

5.5.2. Le typage par séquençage multilocus (MLTS)

La méthode de MLST est basée sur le séquençage des gènes de ménage « house keeping genes » caractéristiques de chaque espèce. Le choix de ces gènes repose sur leur variabilité allélique et sur l'absence de répercussions due à la pression de sélection de milieu extérieur et leur répartition homogène sur le chromosome. Ce sont pour la plupart, des gènes codant des enzymes du métabolisme intermédiaire (**Maiden et al., 1998**).

Au sein d'une même espèce et pour chaque locus étudié, toute mutation relevée dans la séquence, définit un nouvel allèle ou variant allélique, auquel un numéro arbitraire est attribué. La combinaison des différents allèles fournit un profil allélique qui définit un type particulier pour chaque isolat, ou Séquence Type (ST). La combinaison des allèles des différents gènes analysés est unique pour une souche donnée (**Maiden, 2006**).

5.5.3. Electrophorèse en champ pulsé (ECP)

L'ECP permet de séparer et d'analyser des fragments d'ADN de grande taille (> 20 kilobases) obtenus après coupure par des endonucléases ayant peu de sites de restriction sur l'ADN. Le génome total de la ou des bactéries étudiées est ainsi coupé en un nombre limité de fragments de restriction de grande taille. Le principe de l'ECP consiste à soumettre les fragments d'ADN obtenus à des champs électriques alternés. À chaque modification du champ électrique, les molécules doivent se réorienter parallèlement au nouveau champ afin de pouvoir pénétrer puis migrer dans la matrice du gel d'électrophorèse. La commutation d'un champ électrique à l'autre est appelée "pulse". Afin d'obtenir une meilleure résolution, des pulses longs sont appliqués pour séparer les fragments d'ADN de grande taille et des pulses courts pour séparer ceux de plus petite taille (**Marchandin et al., 2002**).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Souches identifiées

Le nombre des souches de *P.aeruginosa* isolées diffèrent selon les hôpitaux étudiés (**Tableau 7**), cela est probablement du au nombre et au type de prélèvements effectués. De plus ces variations peuvent être expliquées par l'influence du temps (durée plus ou moins longue de l'étude), de la géographie et le lieu de l'étude (un seul service ou tout un établissement de soin)(Ablavi, 2016).

Tableau 7:Nombre des souches hospitalières de *P.aeruginosa* isolées en Algérie

Articles	Lieu d'étude	N° de souches identifiées
1. Drissi <i>et al.</i> , 2008	CHU de Tlemcen	199
2. Sefraoui <i>et al.</i> , 2014	3 CHU (Tlemcen ; Oran ; Sidi Bel abbes)	89
3. Merdji <i>et al.</i> , 2015	3 Hôpitaux d'Annaba (Ibn Sina, Dorban et Ibn Rochd)	80
4. Meradji <i>et al.</i> , 2016	Hôpital Ibn Sina (Annaba)	30
5. Mellouk et Meradji, 2017	Hôpital de Skikda	70
6. Bourafa <i>et al.</i> , 2018	Hôpital d'Annaba	9
7. Merradi <i>et al.</i> , 2019	CHU de Batna	188
8. Meliani <i>et al.</i> , 2020	Hôpital d'Annaba	39
9. Tchakal-Mesbahi <i>et al.</i> , 2021	Hôpital Militaire d'Alger	47

2. Résistance aux antibiotiques chez *P.aeruginosa* en milieu hospitalier en Algérie

2.1. Résistance aux β -lactamines

Différents taux de résistance ont été notés pour les β -lactamines dans les différents établissements étudiés dans les articles analysés (Figures 15, 16 et 17).

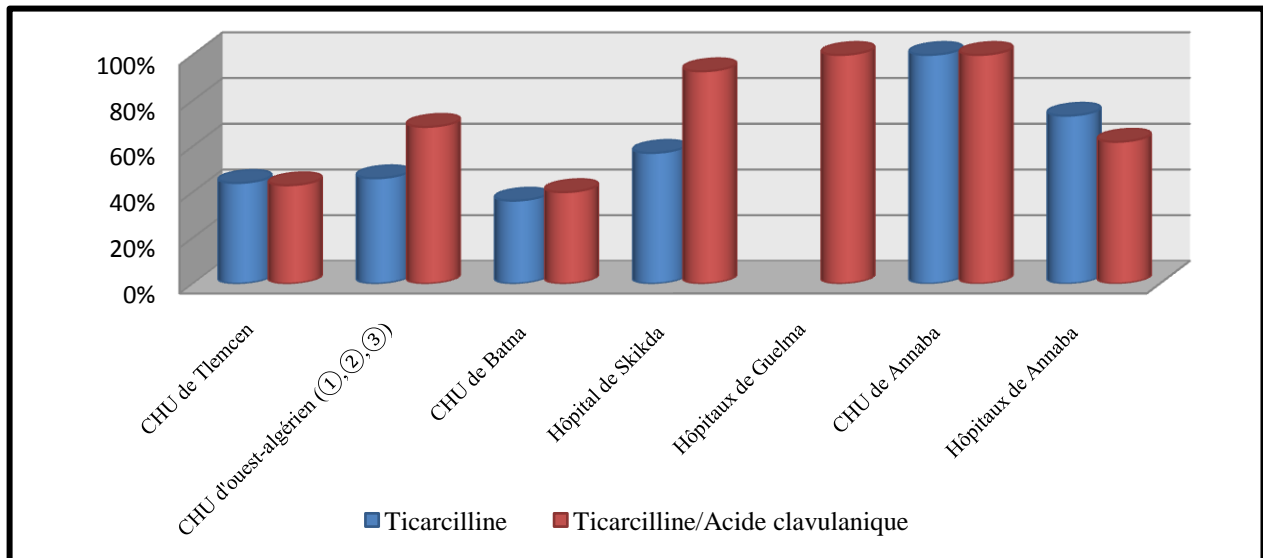


Figure 15: Taux de résistance à la ticarcilline et ticarcilline/acide clavulanique chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie. ①CHU de Tlemcen, ②CHU d'Oran, ③CHU de Sidi Bel Abbas

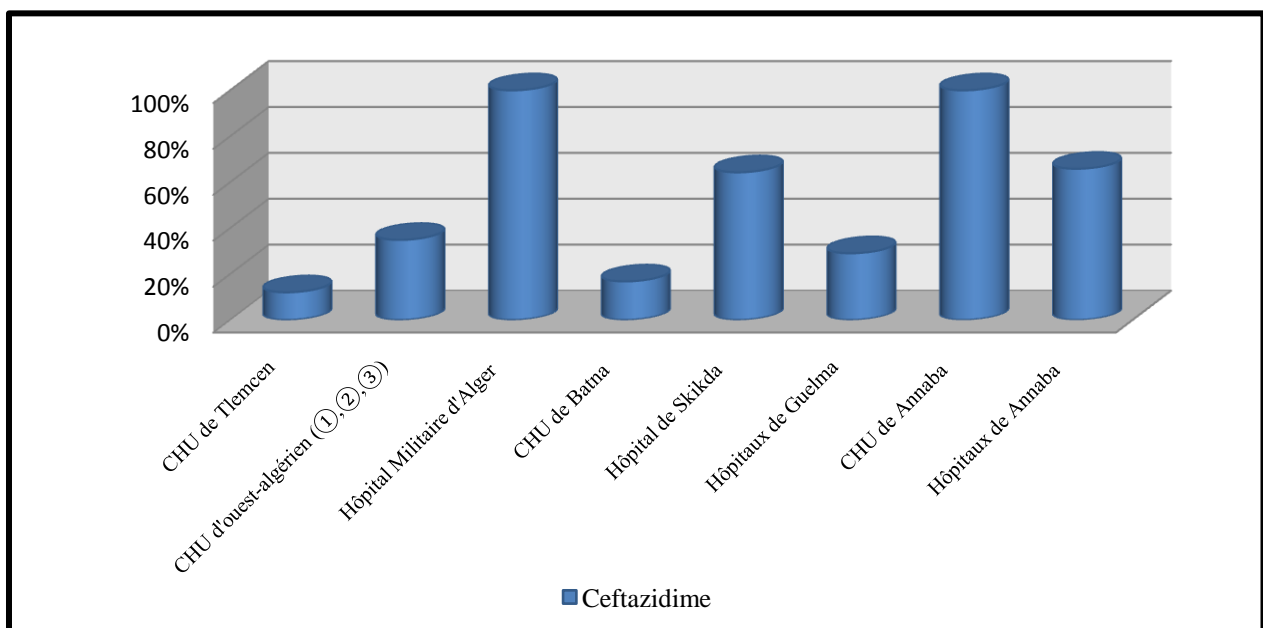


Figure 16: Taux de résistance à la ceftazidime chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie.

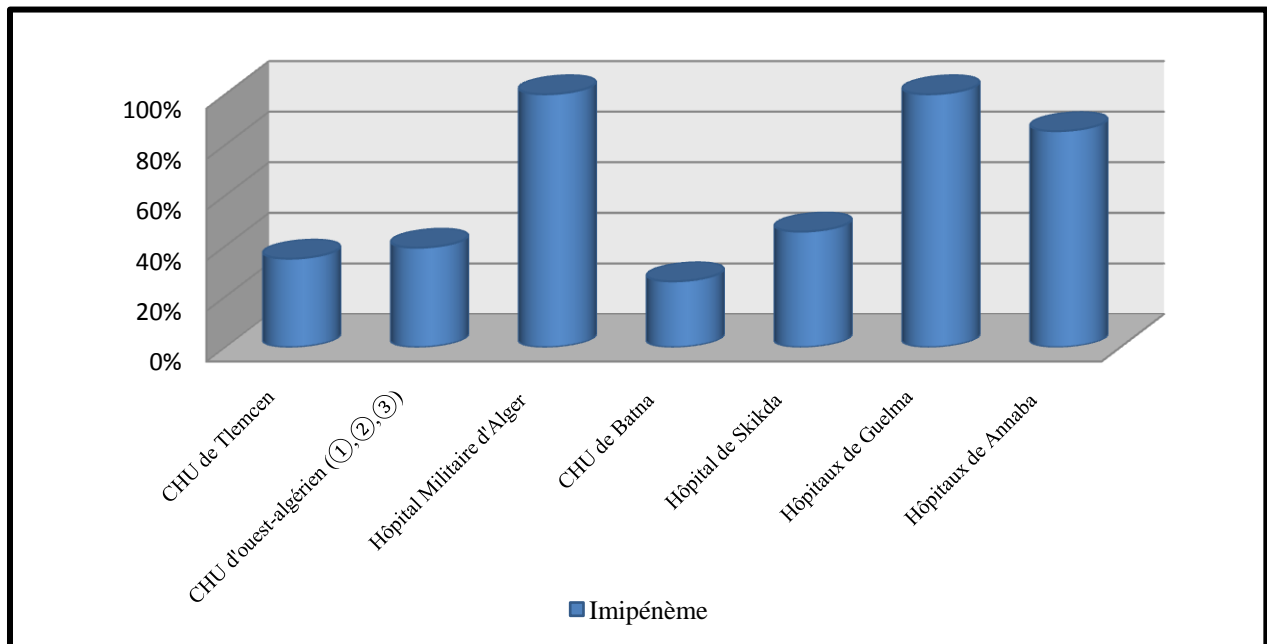


Figure 17: Taux de résistance à l'imipénème chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie.

Au sein de la famille des β -lactamines, la ticarcilline/acide clavulanique (TCC) est l'antibiotique vis-à-vis duquel le *P.aeruginosa* a développé plus de résistance dans les différents établissements étudiés. En effet, des taux de résistance très élevés ont été notés aux hôpitaux de Guelma 100%, au CHU d'Annaba 100%, l'hôpital de Skikda 93%, aux CHU de nord-ouest algérien 69% et aux hôpitaux d'Annaba 62% (Bouguenoun *et al.*, 2016 ; Touati *et al.*, 2013 ; Mellouk et Meradji, 2017 ; Sefraoui *et al.*, 2014 ; Meradji *et al.*, 2015 ; Meradji *et al.*, 2016 ; Bourafa *et al.*, 2018 ; Meliani *et al.*, 2020). Des taux d'isolement important de *P. aeruginosa* résistante au TCC ont été également obtenus en Iran 94% (Bazghandi *et al.*, 2021).

Par ailleurs, les taux de résistance les plus faibles ont été enregistrés au niveau de CHU de Batna et CHU de Tlemcen, 43% et 40% respectivement (Merradi *et al.*, 2019 ; Addouda *et al.*, 2020 ; Drissi *et al.*, 2008). Nos résultats sont largement supérieurs que ceux rapportées en Libye (5%) (Mathlouthi *et al.*, 2015).

Concernant la ticarcilline, les taux de résistance étaient nettement plus élevés à Annaba avec des valeurs comprises entre 73% et 100%, et à Skikda (57%) (Touati *et al.*, 2013 ; Meradji *et al.*, 2015 ; Meradji *et al.*, 2016 ; Bourafa *et al.*, 2018 ; Meliani *et al.*, 2020 ; Mellouk et Meradji, 2017). Ces taux de résistance élevés peuvent être expliqués par une utilisation abusive de cet antibiotique dans ces établissements (Benrabah et Mechri, 2020).

D'autre part, des taux de résistance moyens vis-à-vis de la ticarcilline ont été notés aux CHUs du nord-ouest algérien, au CHU de Tlemcen, au CHU de Batna avec des pourcentages de 46%, 44% et 36% respectivement (**Sefraoui et al., 2014 ; Drissi et al., 2008 ; Merradi et al., 2019 ; Addouda et al., 2020**). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportées au Maroc 32,6% (**Frikh et al 2007**), en Tunisie 26,2% (**Ben Abdallah et al 2008**) et en Iran 27% (**Goli et al 2016**)

Pour la ceftazidime, 100% des souches cliniques de *P.aeruginosa* étaient résistantes à l'hôpital militaire d'Alger et au CHU de Annaba (**Tchakal-Mesbahi et al., 2021 ; Touati et al., 2013**), 66% aux hôpitaux d'Annaba et 64% à l'hôpital de Skikda (**Meradjiet al., 2015 ; Meradji et al., 2016 ; Bourafa et al., 2018 ; Meliani et al., 2020 ; Mellouk et Meradji, 2017**). Cela est probablement due à une surproduction de la céphalosporinase AmpC naturelle chez cette espèce (**Mérens et al., 2011**). Cependant, des taux de résistance moyens à cet antibiotique ont été trouvés aux CHUs du nord-ouest algérien (35%) et aux hôpitaux de Guelma (29%) (**Sefraoui et al., 2014 ; Bouguenoun et al., 2016**). Ces résultats sont proches que ceux rapportées en Libye 34% et en Tunisie 35% (**Mathlouthi et al., 2015 ; Zoghلامي et al., 2012**).

Les taux de résistance les plus faibles à la ceftazidime ont été détectés au CHU de Tlemcen 12% et au CHU de Batna 15% (**Drissi et al., 2008 ; Merradi et al., 2019 ; Addouda et al., 2020**), ce qui concorde bien avec des résultats obtenus au Maroc 18% (**Frikh et al., 2017**).

Pour la classe des carbapénème, les taux de résistance étaient les suivants : 100% à l'hôpital Militaire d'Alger et aux hôpitaux de Guelma, 83% aux hôpitaux d'Annaba, 46% à l'hôpital de Skikda, 39% aux CHUs du nord-ouest algérien et 35% au CHU de Tlemcen et 26% au CHU de Batna

La résistance aux carbapénèmes chez les souches étudiées est principalement liée à deux mécanismes. Le premier c'est les mutations dans le gène *oprD* codant la protéine D2 responsable de la pénétration des Carbapénèmes à l'intérieur de la bactérie. En effet, cinq études ont rapporté la dominance de ce mécanisme parmi les souches de *P. aeruginosa* hospitalière résistante aux carbapénèmes en Algérie : 100% à Annaba (**Bourafa et al., 2018**) et à Guelma (**Bouguenoun et al., 2016**), 94,28% aux CHUs du Nord-Ouest algérien (**Sefraoui et al., 2014**), 41% au CHU de Batna (**Addouda et al., 2020**) et 35% au CHU de Tlemcen (**Drissi et al., 2008**). Le deuxième mécanisme c'est la production de carbapénémases appartenant au classe B d'Ambler avec 100% de souches productrices à l'hôpital militaire

d'Alger (**Tchakel-Mesbahi et al., 2021**), 82.35% au CHU d'Annaba (**Touati et al., 2013**), 46,6 à 75% aux hôpitaux d'Annaba (**Meradji et al., 2016 ; Meliani et al., 2020**), 66.6% au CHU de Batna (**Merradi et al., 2019**) et 5.72% aux CHUs du Nord-Ouest algérien (**Sefraoui et al., 2014**).

2.2. Résistance aux aminosides

Pour les aminosides, les taux de résistance étaient différents en fonction des CHU étudiés (**Figure 18**).

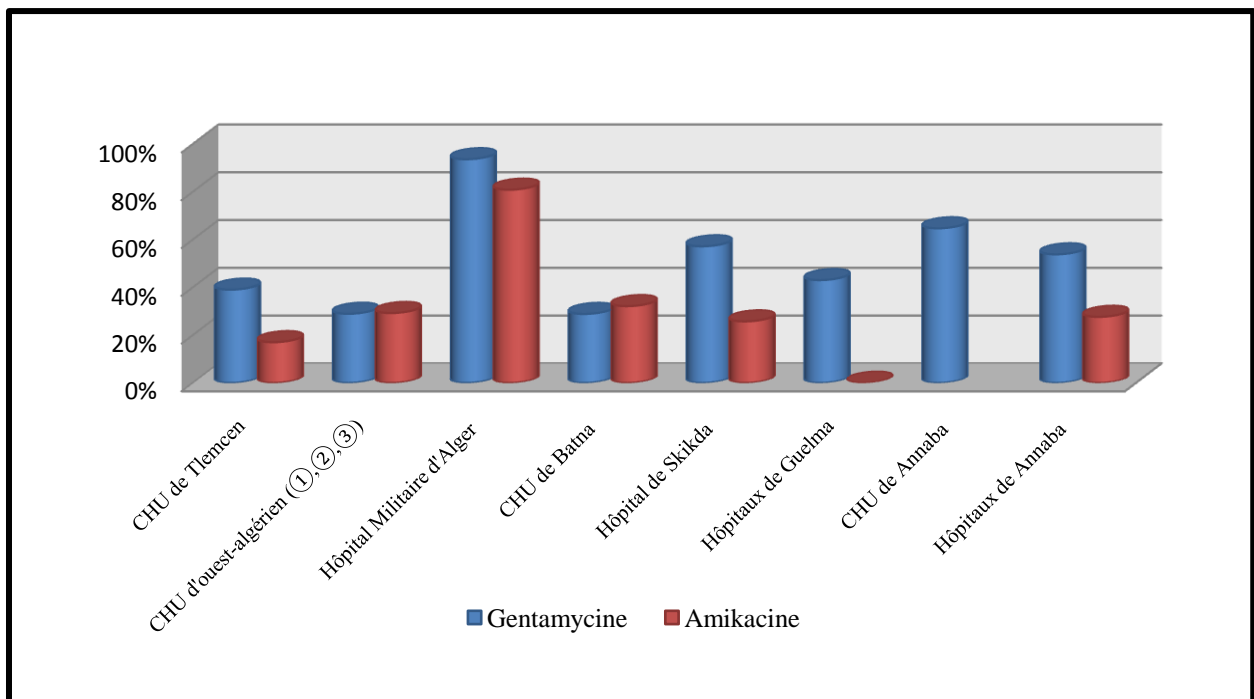


Figure 18: Taux de résistance à la gentamycine et à l'amikacine chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie.

Les taux de résistance notés pour la gentamicine sont les suivants : 94% à l'hôpital militaire d'Alger (**Tchakal-Mesbahi et al., 2021**), 65% au CHU d'Annaba (**Touati et al., 2013**), 57% à l'hôpital de Skikda (**Mellouk et Meradji, 2017**), 54% aux hôpitaux d'Annaba (**Meradji et al., 2015 ; Meradji et al., 2016 ; Bourafa et al., 2018 ; Meliani et al., 2020**), 43% aux hôpitaux de Guelma (**Bouguenoun et al., 2016**) et 39% au CHU de Tlemcen (**Drissi et al., 2008**).

Les taux de résistance à l'amikacine sont les suivants : 81% à l'hôpital militaire d'Alger (**Tchakal-Mesbahi et al., 2021**), 28% aux hôpitaux d'Annaba (**Meradji et al., 2015 ; Meradji et al., 2016 ; Bourafa et al., 2018 ; Meliani et al., 2020**), 26% à l'hôpital de Skikda

(Mellouk et Meradji, 2017), 17% au CHU de Tlemcen (Drissi et al., 2008) et une sensibilité totale a été constatée aux hôpitaux de Guelma (Bouguenoun et al., 2016).

Les résultats cités ci-dessus (Figure 18) montrent que la résistance de *P. aeruginosa* à la gentamycine est plus importante qu'à l'amikacine dans la plupart des études réalisées dans les hôpitaux algériens ce qui est forcément lié à une utilisation massive de la gentamycine dans ces établissements.

2.3. Résistance aux quinolones

Pour la famille des quinolones, les taux de résistance des souches de *P.aeruginosa* à la ciprofloxacine dans les hôpitaux algériens sont présentés dans la figure suivante (Figure 19).

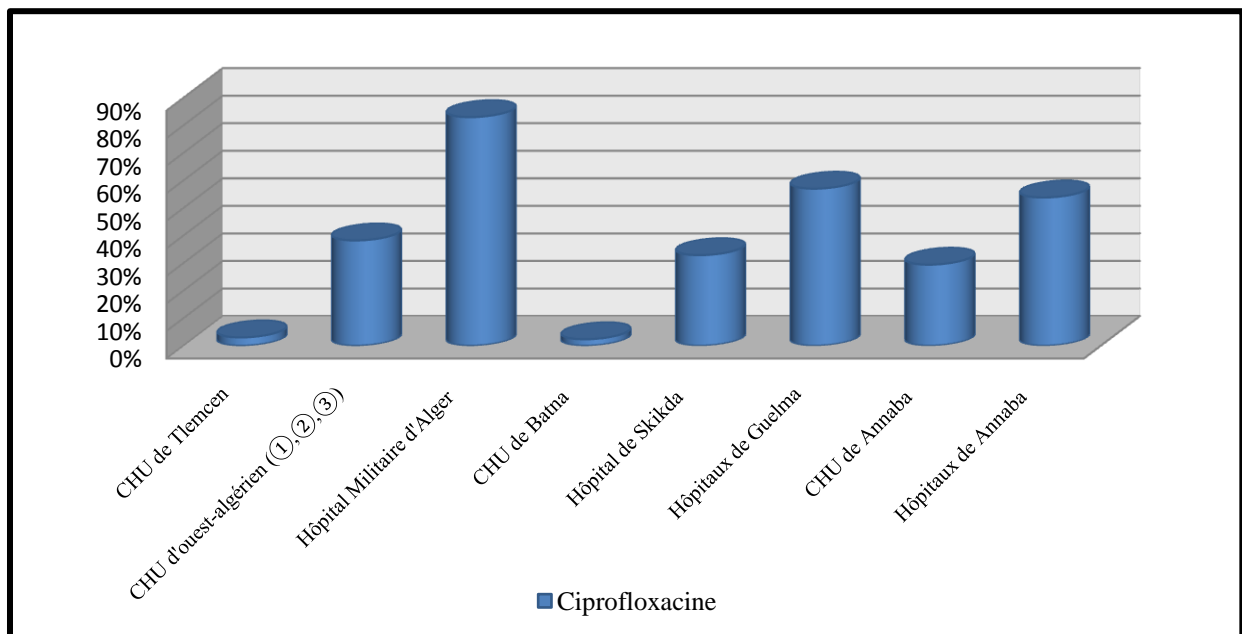


Figure 19: Taux de résistance à la ciprofloxacine chez les souches hospitalières de *P.aeruginosa* en Algérie.

Des taux de résistance élevés ont été trouvés à l'hôpital militaire d'Alger 83% (Tchakal-Mesbahi et al., 2021), aux hôpitaux de Guelma 57% (Bouguenoun et al., 2016) et aux hôpitaux d'Annaba 54% (Meradji et al., 2015 ; Meradji et al., 2016 ; Bourafa et al., 2018 ; Meliani et al., 2020). Des taux moyens ont été détectés aux CHU de nord-ouest algérien 38% (Sefraoui et al., 2014), à l'hôpital de Skikda 33% (Mellouk et Meradji., 2017) et au CHU d'Annaba 29% (Touati et al., 2013). En revanche, les taux les plus faibles ont été signalés au CHU de Tlemcen 3% (Drissi et al., 2008) et au CHU de Batna 2% (Merradi et al 2019 ; Addouda et al., 2020).

2.4. Résistance à la colistine

Contrairement aux antibiotiques testés précédemment, la colistine reste la molécule la plus active contre les souches *P.aeruginosa* en milieu hospitalier en Algérie et la résistance à cet agent antimicrobien reste marginale et classiquement faible. En effet, dans 7 études parmi les 12 articles analysés, 100% de souches hospitalières de *P. aeruginosa* étaient sensibles à la colistine. Cette situation observée en Algérie était également observé dans d'autres régions dans le monde, Maroc (**Frikh et al., 2017**), Tunisie (**Ben Abdallah et al.,2008**) et Libye (**Mathlouthi et al., 2015**).

les souches de *P.aeruginosa* résistantes à la colistine n'ont été détectées qu'au CHU de Batna (27 souches) et aux hôpitaux d'Annaba (29 souches) (**Merradi et al., 2019 ; Addouda et al., 2020 ; Meradji et al., 2015 ; Meradji et al., 2016**).

Les différences en taux de résistance aux antibiotiques notées dans les hôpitaux algériens sont forcément dues aux différentes stratégies d'utilisation des antibiotiques dans ces établissements. En effet, le niveau de résistance aux antibiotiques reflète toujours les habitudes de prescription de ces molécules dans un établissement donné.

CONCLUSION

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste responsable essentiellement d'infections nosocomiales. Cette espèce manifeste vis-à-vis des antibiotiques un pouvoir d'adaptation de plus en plus grand qui aboutit à des problèmes thérapeutiques souvent aigus.

Dans cette étude les 12 articles, traitant la problématique de la résistance aux antibiotiques de *P.aeruginosa* dans les hôpitaux algériens, ont été analysés. Leurs résultats montrent des taux de résistance considérablement élevés vis-à-vis des β -lactamines, des aminosides et des quinolones qui perdent leur place dans l'arsenal thérapeutique contre *P.aeruginosa*. Par ailleurs, la colistine garde une très bonne activité contre les souches étudiées.

Plusieurs gènes de résistance aux β -lactamines ont été décrits chez *P.aeruginosa* dans les hôpitaux algériens. Il s'agit des gènes codant les pénicillinases OXA-10, TEM-110 et le PSE-1, les β -lactamases à spectre étendu SHV-2, TEM, CTX-M2 et PER et les carbapénémases de type VIM-2 et VIM-4. Cette étude révèle que la présence d'inactivation par mutation du gène *oprD* est le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa*, suivi par l'acquisition de métallob β -lactamases.

Les résultats des articles analysés montrent également la détection d'autres gènes de résistance aux antibiotiques. Il s'agit des gènes codant la résistance aux aminosides par inactivation enzymatique (*aacA4*, *aac(3')*, *aac6-Ib*, *aadB*, *aadA*, *aadA1*, *aadA7* et *aadA13*) ou par modification de leur cible (*rmtB*); et de gène de résistance à la colistine (*mcr-1*). Les gènes *rmtB* et *mcr-1* sont rarement détectés chez les souches étudiées, on rapporte ici leur unique et première description chez *P.aeruginosa* en milieu hospitalier en Algérie.

Enfin, cette étude attire l'attention sur le risque d'émergence des souches cliniques de *P.aeruginosa* résistantes à de multiples antibiotiques incluant les β -lactamines, les aminosides et les quinolones qui représente un problème mondial de la santé et souligne la nécessité de la mise en place d'un système de surveillance de l'environnement hospitalier et l'application stricte des mesures d'hygiène dans les hôpitaux algériens.

Pour pouvoir maîtriser la problématique de la multirésistance et le risque de l'émergence de la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques, différentes approches sont suggérées:

- ✓ Une meilleure compréhension des mécanismes d'acquisition des résistances aux antibiotiques afin de pouvoir identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.
- ✓ La constitution des comités au sein de différents établissements de santé chargés des programmes pour le contrôle des infections nosocomiales s'avère ainsi une priorité indispensable.
- ✓ La nécessité de fournir des données épidémiologiques sur les souches cliniques et établir des études plus profonde sur la dissémination des souches environnementales diffusées en milieu hospitalier.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE
S

- **Ablavi, I.** (2016). *Pseudomonas aeruginosa* : épidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : université Mohammed V ,116p.
- **AbuOun M.**(2017). Stubberfield EJ, Duggett NA, Kirchner M, Dormer L, Nunez-Garcia J, et al. mcr-1 and mcr-2 variant genes identified in Moraxella species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. J Antimicrob Chemother.
- **Addouda.A, Ayachi. A , Hassaine. H , Dhaouadi .S , Soufi .L , Mahjoubi .M Benmehidi. M, Grainat .N, Elandalousi. R. B** (2020) . Emergence of plasmid mediated colistin resistance gene mcr-1 in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Algeria : a new successful resistance combination toward a therapeutic impasse ?International Journal of Sciences and Research Vol. 76 | No. 4/1 | Apr 2020 DOI :10.21506/j.ponte.2020.4.16.
- **Aggoune-Khinache, N., Bensorsa, D., Henniche, F. Z., Daoudi, M., Abdouni, M. A., Chabani, A., Tiouit, D., & Naim, M.** (2009). *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de métallo-beta-lactamases en Algérie [Metallo-beta-lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* in Algeria]. *Medecine et maladies infectieuses*, 39(6), 413–414. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.11.001>
- **Aissa.K** (2012). Profil de la résistance de pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques aux services de réanimation à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de rabat entre 2006 et 2010.
- **Aktas,Z., Poirel,L., Salcioglu,M., Ozcan,P.E., Midilli,K., Bal,C. et al.** (2005) PER-1- and OXA-10-like beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates From intensive care unit patients in Istanbul, Turkey. Clin Microbiol Infect 11 : 193-198
- **Amazian K., Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah L., Abdelmoumène T., Fabry1 J., les membres du réseau NosoMed.,** (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale* 16 (10) : 1070-1078.
- **Amira El-Far, Safia Samir, Eman El-Gebaly, Maysa Omar, Heba Dahroug, Ahmed El-Shenawy, Noha Salah Soliman, Doaa Gamal,**(2021) High Rates of Aminoglycoside Methyltransferases Associated with Metallo-Beta-Lactamases in Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from a Tertiary Care Hospital in Egypt Infect Drug Resist 19;14:4849-4858
- **Andersson, M.I., MacGowan, A.P,**(2003). Development of the quinolones. J. Antimicrob. Chemother. 51 Suppl 1, 1–11. doi:10.1093/jac/dkg212
- **Assel,B. Dhib, S. Zouaoui, B.** (2021). la résistance bactérienne aux antibiotiques états et cause possible de la contamination mémoire de Master

- **Ayad.A (2017).** Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien, Thèse Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen
- **Baba Ahmed-Kazi Tani, Z., Decré, D., Genel, N., Boucherit-Otmani, Z., Arlet, G., & Drissi, M. (2013).** Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008-2010). *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 19(3), 185–190. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0161>
- **Bachiri, T., Lalaoui, R., Bakour, S., Allouache, M., Belkebla, N., Rolain, J. M., & Touati, A. (2018).** First Report of the Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene mcr-1 in *Escherichia coli* ST405 Isolated from Wildlife in Bejaia, Algeria. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 24(7), 890–895. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0026>
- **Bahar, G., Mazzariol, A., Koncan, R., Mert, A., Fontana, R., Rossolini, G. M. & Cornaglia, G. (2004).** Detection of VIM-5 metallo- β -lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. *J Antimicrob Chemother* 54, 282–283
- **Bakour, S., Kempf, M., Touati, A., Ait Ameer, A., Haouchine, D., Sahli, F., & Rolain, J. M. (2012).** Carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in two university hospitals in Algeria. *Journal of medical microbiology*, 61(Pt 9), 1341–1343. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045807-0>
- **Barakat R, (2012).** Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle, France
- **Barbier F., Wolff M. (2010).** Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: towards a therapeutic dead end?. *Médecine/ Science*, 26: 960–968. doi.org/10.1051/medsci/20102611960
- **Barir, O., Ghilani, M. (2011).** Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière. Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire. Biskra : Université Mohamed khider-Biskra
- **Bazghandi S.A, Mohsen Arzanlou, Hadi Peeridogaheh, Hamid Vaez, Amirhossein Sahebkar et Farzad Khademi (2021).** Prevalence of Virulence Genes and Drug Resistance Profiles of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Specimens *J Microbiol.* doi: 10.5812/jjm.118452.
- **Ben abdallah, H. B., Noomen, S., Khélifa, A. B. E., Sahnoun, O., Elargoubi, A., & Mastouri, M. (2008).** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la région de Monastir. *Médecine et maladies infectieuses*, 38(10), 554-556.
- **Ben Haj khalifa A, Didier Moissenet, Hoag Vu Thien, Mohamed Khedher. (2011).** Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. *Ann Biol Clin*

- **Benabid R. (2009).** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*, université de reims champagne-ardenne, u.f.r de médecine, thèse de doctorat
- **Benrabah M et Mechri S (2020).**Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des *Entérobactéries* isolées d'infections urinaires en milieu Hospitalier (HMRUC), Mémoire de Master.
- **Berrazeg, M., Hadjadj, L., Ayad, A., Drissi, M., & Rolain, J. M. (2016).** First Detected Human Case in Algeria of mcr-1 Plasmid-Mediated Colistin Resistance in a 2011 *Escherichia coli* Isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(11), 6996–6997. <https://doi.org/10.1128/AAC.01117-16>
- **Bert.F, Maubec.E et al.**Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with contamination tap water in neurosurgery intensive care unit.J Hosp Infect 1998
- **Biquand.A(2017).** Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements en 2017. Sciences du Vivant [q-bio]..dumas-01811962.
- **Bolard.A (2019).** Identifications de nouvelles voies de régulation impliquées dans la résistance non enzymatique aux aminosides chez *Pseudomonas aeruginosa*. Bactériologie. Université Bourgogne Franche-Comté
- **Bonomo RA, Szabo D. (2006).** Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006 ; 43 (suppl 2) : S49-56.
- **Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, Hendriksen RS, Szabo I, Malorny B (2017).** Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother*.
- **Bouacha.H, Djera.K, Habbi.A (2020).** Epidémiologie et résistance aux antibiotiques du *Pseudomonas aeruginosa* sur cinq ans (2015- 2019) au CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou
- **Bouguenoun .W (2017).** Étude De La Résistance Aux Antibiotiques Des Bactéries Incriminées Dans Les Infections Nosocomiales Et Leur Dissémination Dans L'environnement Hospitalier De La Région De Guelma.
- **Bouguenoun, W., Bakour, S., Bentorki, A. A., Al Bayssari, C., Merad, T., & Rolain, J. M. (2016).** Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*. *Journal of global antimicrobial resistance*, 7, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.011>
- **Bourafa, N., Chaalal, W., Bakour, S., Lalaoui, R., Boutefnouchet, N., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2018).**Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria. *Infection and drug resistance*, 11, 735–742. <https://doi.org/10.2147/IDR.S150005>

- **Bourahla N, Haddache W (2016).** Etude de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015 [Thèse Doctorat], Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
- **Boussaid,N., Mokadem,S (2018).** Recherche des bactéries Gram négatif multi-résistantes isolées des patients et de leurs environnements à l'EPH « MOHAMED BOUDIEF » et l'EHSE mères et enfants de Ouargla. Mémoire du Master, Université Kasdi Merbah Ouargla
- **Bovet D. (1988).** Une Chimie qui guérit : histoire de la découverte des sulfamides, Paris, Payot, coll. « Médecine et sociétés », 322 p
- **Brahim, S. (2019).** Contribution à l'étude du système BAC "Biofilm Associated Cluster" chez *Pseudomonas aeruginosa*. Chimie thérapeutique. Normandie Université
- **Bush K et Jacoby G.A (2010).** Updated functional classification of beta-lactamases Antimicrob Agents Chemother 54(3):969-76. Doi : 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7.
- **Carattoli A, Villa L, Feudi C, Curcio L, Orsini S, Luppi A, Pezzotti G et Magistrali CF (2017).** Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in Salmonella and Escherichia coli, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. Eurosurveillance 22.
- **Carek, P. J., Dickerson, L. M. & Sack, J. L. (2001).** Diagnosis and management osteomyelitis. *Am Fam Physician* 63, 2413-20.
- **Celenza G, Pellegrini C, Caccamo M, Segatore B, Amicosante G, Perilli M.(2006).** Spread of blaCTX-M-type and blaPER-2 genes in Clinical isolates from Bolivian hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2006 ;57 :9758, doi :http://dx.doi.org/10.1093/jac/ Dkl055 PMID : 16510850.
- **Chabou, S., Leangapichart, T., Okdah, L., Le Page, S., Hadjadj, L., & Rolain, J. M. (2016).** Real-time quantitative PCR assay with Taqman(®) probe for rapid detection of MCR-1 plasmid-mediated colistin resistance. *New microbes and new infections*, 13, 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2016.06.017>
- **Chaibdraa A., Medjellekh M.S., Saouli A. Et Bentakouk M.C. (2008).** Le Pseudomonas: Expérience du Centre des Brûles D'Annaba et Revue de la Littérature. *Ann Burns Fire Disasters*
- **Chain, E., H. W. Florey, A. D. Hardner, N. G. Heatiey, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing and A. G. Sanders (1940).** "Penicillin as a Chemotherapeutic Agent." *Lancet* 239: 226-228
- **Chain, E., H. W. Florey, A. D. Hardner, N. G. Heatiey, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing and A. G. Sanders (1940).** "Penicillin as a Chemotherapeutic Agent." *Lancet* 239: 226-228
- **Chaker H. (2012)** .Regulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* a son hôte : implication des métabolites du tryptophane.

- **Chen Z, Niu H, Chen G, Li M, Li M, Zhou Y.(2015).** Prevalence of ESBLs producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from different Wards in a Chinese teaching hospital. *Int J Clin Exp Med* ;8 (10)19400-5
- **Cohen, R., et Rollet, V. (2013)** Stratégies de traitement antibiotique des infections à BMR. *Archives de Pédiatrie* 20 : 59-60.
- **Costerton, J.W., Stewart, P.S., and Greenberg, E.P. (1999)** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284: 1318-1322
- **Cottalorda, A. (2020).** Diversité phénotypique et moléculaire d'isolats urinaires de *Pseudomonas aeruginosa*. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université.
- **Courvalin, P. (2008).** La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bull. Acad. Vét. (France)*, tome 161, n°1
- **Crespo, M. P., Woodford, N., Sinclair, A., Kaufmann, M. E., Turton, J., Glover, J., Velez, J. D., Castaneda, C. R., Recalde, M. & Livermore, D. M. (2004).** Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo- β -lactamase, in a Tertiary care center in Cali, Colombia. *J Clin Microbiol* 42, 5094–5101.
- **D. Yala. A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar (2001).** Résistance bactérienne aux antibiotiques point médecine du Maghreb n° 91
- **Dallenne C., V. Lefebvre, F. Le Broc, E. Keller, C. Favier, M. Juvin, D. Malait (2015).** Comparison of the β CARBA Test and CARBA NP Test for the Detection of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*.
- **Daly, J.A., Boshard, R., and Matsen, J.M. (1984).** Differential primary plating medium for enhancement of pigment production by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.*
- **Darghout S., Metheni A. (2016)** .Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans la région de constantine. Mémoire du Master 2 : génétique moléculaire .université des Frères Mentouri constantine
- **Dauvergne, E. (2018).** Détection de gènes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries isolées des produits de la mer thèse de doctorat.
- **De Champs C. (2002).** Perspective survey of β -lactamase produced ceftazidim. *Agent chemother*; 46(9):30-34.
- **Doi, Y., Yokoyama, K., Yamane, K., Wachino, J., Shibata, N., Yagi, T., Shibayama, K., Kato, H., & Arakawa, Y. (2004).** Plasmid-mediated 16S rRNA methylase in *Serratia marcescens* conferring high-level resistance to aminoglycosides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(2), 491–496. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.2.491-496.2004>
- **Drissi M., Baba Ahmed Z., Dehecq B., Bakour R. b, Plésiat P., Hocquet D. (2008).** Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux β -lactamines des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*: première étude en Algérie. *Médecine et maladies infectieuses* 38 (2008) 187–191

- **El'Garch, F., K. Jeannot, D. Hocquet, C. Llanes Barakat, et P. Ple' siat. (2007).** Cumulative effects of several non enzymatic mechanisms on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**:1016–1021.
- **Elmeskini. K. (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* [thèse]. Rabat: Université Mohammed V
- **Elmouaden C, Laglaoui A, Ennane L, Bakkali M, Abid M (2019).** Virulence genes and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from patients in the Northwestern of Morocco. *J Infect Dev Ctries* 2019; 13(10):892-898.
- **Empel, J., Filczak, K., Mrówka, A., Hryniewicz, W., Livermore, D. M., & Gniadkowski, M. (2007).** Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections with PER-1 extended-spectrum beta-lactamase in Warsaw, Poland: further evidence for an international clonal complex. *Journal of clinical microbiology*, 45(9), 2829–2834. <https://doi.org/10.1128/JCM.00997-07>
- **Faure K., Shimabukuro D., Ajayi T., Allmond L.R., Sawa T., and Wiener- Kronish J.P.(2003)** .O-Antigen Serotypes and Type III Secretory Toxins in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* *Journal of Clinical Microbiology*
- **Freeman L. (1916).** CHRONIC GENERAL INFECTION WITH THE BACILLUS PYOCYANEUS. *Annals of surgery*, 64(2), 195–202. <https://doi.org/10.1097/00000658-191608000-00005>
- **Frikh, M., Maleb, A., Ablavi, I. N., Elouennass, M., & Lemouer, A. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa*: Epidémiologie et état actuel des résistances Etude retrospective sur trois ans. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 21(2), 34-40.
- **Galimand, M., Courvalin, P. and Lambert, T. (2003).** Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother* **47**(8): 2565-71.
- **Gaynes, R., Edwards, J. R., & National Nosocomial Infections Surveillance System (2005).** Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 41(6), 848–854. <https://doi.org/10.1086/432803>
- **Gillespie, S.H., Hawkey, P.M., 2005.** Principles and practice of clinical bacteriology .2nd ed, John Wiley & Sons, Ltd, England
- **Goli, H. R., Nahaei, M. R., Ahangarzadeh Rezaee, M., Hasani, A., Samadi Kafil, H., & Aghazadeh, M. (2016).** Emergence of colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Tabriz hospitals, Iran. *Iranian journal of microbiology*, 8(1), 62–69.
- **Griffin, A. S., West, S. A., & Buckling, A. (2004).** Cooperation and competition in pathogenic bacteria. *Nature*, 430(7003), 1024–1027. <https://doi.org/10.1038/nature02744>

- **Hainrichson, M., Nudelman, I., & Baasov, T. (2008).** Designer aminoglycosides: the race to develop improved antibiotics and compounds for the treatment of human genetic diseases. *Org Biomol Chem*, 6(2), 227–239. doi: 10.1039/b712690p
- **Hall, B. G. and M. Barlow (2005).** "Revised Ambler classification of {beta}-lactamases." *J Antimicrob Chemother* 55(6): 1050-1051.
- **Hance, P., Fabre, R., Leblanc, F., & Cavallo, J. D. (2001).** Corrélation entre la sensibilité à la fosfomycine et la présence d'une pénicillinase PSE-1 chez *Pseudomonas aeruginosa* [Correlation between sensitivity to fosfomycin and the presence of penicillinase PSE-1 in *Pseudomonas aeruginosa*]. *Pathologie-biologie*, 49(1), 12–15. [https://doi.org/10.1016/s0369-8114\(00\)00006-7](https://doi.org/10.1016/s0369-8114(00)00006-7)
- **Hancock, R. E. (1998).** Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 27(Supplement_1), 93-99.
- **Hancock, R. E., & Wong, P. G. (1984).** Compounds which increase the permeability of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 26(1), 48-52
- **Haouchi R. (2018),** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram négatif productrices de Beta-Lactamase à spectre étendu ou élargi au niveau du CHU-BENBADIS Constantine mémoire de master
- **Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S., & White, D. G. (2006).** Genetics of antimicrobial resistance. *Animal biotechnology*, 17(2), 111–124. <https://doi.org/10.1080/10495390600957092>
- **Harmouche. A (2010).** étude de l'antibiorésistance chez 83 souches autochtones de bactéries lactiques mémoire de Magister
- **Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010).** Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature reviews. Microbiology*, 8(1), 15–25. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>
- **Hocquet D, Plésiat P, Dehecq B, Mariotte P, Talon D, Bertrand X, et al (2010).** Nationwide investigation of extended-spectrum betalactamases, metallo-beta- lactamases, and extended spectrum oxacillinases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 ;54(8) :3512-5, doi :<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01646-09>.
- **Hoffman,L.R., D'Argenio,D.A., MacCoss,M.J., Zhang,Z., Jones,R.A., and Miller,S.I. (2005)** Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature* 436: 1171-1175
- <https://m.20-bal.com/law/19378/index.html>)
- https://www.sciencesetavenir.fr/fondamental/biologie-cellulaire/magnetococcus-marinus-la-bacterie-qui-nage-plus-vite-qu-un-porte-avion_141878

- **Hugh R, Leifson E ,(1964).** The proposed neotype strains of *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900. International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy. Soc General Microbiol
- **Jafari M, Fallah F, Borhan R S, Navidinia M, Karimi A, Tabatabaei Sedigheh Rafii, Ali Hashemi (2013)** The first report of CMY.aac(6')-ib and 16S rRNA methylase genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran. Archives of pediatric infectious diseases 1 (3), 109-112,
- **Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G., and Philippon, A. (1988)** Extended-broad spectrum β lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 10: 867–78.
- **Jean-Luc Aboya Moroh. (2013).** Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morinda morindoides. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale – Brest
- **Jeong, S. H., Bae, I. K., Park, K. O., An, Y. J., Sohn, S. G., Jang, S. J., Sung, K. H., Yang, K. S., Lee, K., Young, D., & Lee, S. H. (2006).** Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 44(4), 423–431.
- **Juan, C., Beceiro, A., Gutiérrez, O., Alberti, S., Garau, M., Pérez, J. L., Bou, G. & Oliver, A. (2008).** Characterization of the new metallo- β -lactamase VIM-13 and its integron- borne gene from a *Pseudomonas Aeruginosa* clinical isolate in Spain. Antimicrob Agents Chemother 52, 3589–3596..
- **Kalai, S, Blagui , W. Achour , A. Abdeladhim , A. Ben Hassen (2008).** Identification des gènes de β -lactamase à spectre étendu de type SHV chez *Pseudomonas aeruginosa* par PCR-restriction fragment length polymorphism et insertion site restriction-PCR .Doi :10.1016/j.patbio.2008.07.024.
- **Khan, N. H., Ishii, Y., Kimata-Kino, N., Esaki, H., Nishino, T., Nishimura, M., & Kogure, K. (2007).** Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. *Microbial ecology*, 53(2), 173–186. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9059-3>
- **Krawczyk. B., Kur. J (2018).** Chapitre 16 - Identification moléculaire et génotypage des staphylocoques : genre, espèce, souches, clones, lignées et échanges interespèces. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813547-1.00016-9>
- **Ktari S, Mnif B, Znazen A, Rekik M, Mezghani S, Mahjoubi Rhimi F, et al..(2011).** Diversity of beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing metallo-beta-lactamase in two Tunisian hospitals. Microb Drug Resist 2011 ;17 :2530..
- **Langendonk R. F, Daniel R. Neill et Joanne L. Fothergill (2021).** The Building Blocks of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Implications for Current Resistance-Breaking Therapies. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.665759>

- **Laudy AE, Róg P, Smolinska-Król K, Cmiel M, Słoczyńska A, Patzer J, et al. (2017).** Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas Aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various Phenotypic and genotypic methods.
- **Laudy, A. E., Róg, P., Smolińska-Król, K., Cmiel, M., Słoczyńska, A., Patzer, J., Dzierżanowska, D., Wolinowska, R., Starościk, B., & Tyski, S. (2017).** Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. *PloS one*, 12(6), e0180121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180121>
- **Lee, K., Lim, Y.S., Yong, D., Yum, J.H., and Chong, Y. (2003)** Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* **41**: 4623-4629
- **Lega J (2010).** Evaluation Des Propriétés Antibactériennes, In Vitro, D'extraits De Feuilles D'*argemone Mexicana* L. (*Papaveraceae*). Thèse doctorat. Université De Ouagadougou
- **Legrand, O. (2017).** Implication Du Pharmacien Hospitalier Dans La Prise En Charge Des Infections A Bactéries Multirésistantes : Revue De Pertinence Des Prescriptions De Piperacilline/Tazobactam Et Épargne Des Antibiotiques A Large Spectre Au Centre Hospitalier D'aubagne
- **Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009).** Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582–610. <https://doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
- **Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B and Huang X (2016).** Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet infectious diseases* **16**:161-168.
- **López-Causapé, C., Cabot, G., Del Barrio-Tofiño, E., and Oliver, A. (2018).** The Versatile Mutational Resistome of *Pseudomonas aeruginosa* *Front. Microbiol.* **9**, 685. doi:10.3389/fmicb.2018.00685
- **M. David S., Boyer, a, b J.-F. Lemeland (2008).** Émergence de bêta – lactamases à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* à propos de 24 cas au CHU de Rouen. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.07.027>.
- **Machado, E., Coque, T. M., Cantón, R., Novais, A., Sousa, J. C., Baquero, F., Peixe, L., & Portuguese Resistance Study Group (2007).** High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae from Portugal. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(6), 1370–1374. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm381>
- **Magin, V. (2019).** Exploration du potentiel des bactériophages dans le traitement des surfaces en contact avec l'eau, contaminées par un biofilm de *P.aeruginosa*. Thèse De Doctorat

- **Maiden M. C. (2006).** Multilocus sequence typing of bacteria. *Annual review of microbiology*, 60, 561–588. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121325>
- **Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D. A., Feavers, I. M., Achtman, M., & Spratt, B. G. (1998).** Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(6), 3140–3145. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.6.3140>
- **Marchandin, H., M. Siméon de Buochberg, H. Jean-Pierre, C. Carrière (2002).** Typage épidémiologique et *Pseudomonas aeruginosa* *Epidemiological typing and Pseudomonas aeruginosa*. La Lettre du Pneumologue - Volume V - no 3.
- **Maroui, I., Barguigua, A., Aboukacem, A., Ouarrak, K., Sbiti, M., Louzi, H., Timinouni, M., & Belhaj, A. (2016).** First report of VIM-2 metallo- β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Morocco. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 22(3), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.11.008>.
- **Masuda, N., Kudoh, S., & Fukuoka, M. (1996).** Irinotecan (CPT-11): pharmacology and clinical applications. *Critical reviews in oncology/hematology*, 24(1), 3–26. [https://doi.org/10.1016/1040-8428\(96\)00201-6](https://doi.org/10.1016/1040-8428(96)00201-6)
- **Mathlouthi, N., Areig, Z., Al Bayssari, C., Bakour, S., Ali El Salabi, A., Ben Gwierif, S., Zorgani, A. A., Ben Slama, K., Chouchani, C., & Rolain, J. M. (2015).** Emergence of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates Collected from Some Libyan Hospitals. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 21(3), 335–341. <https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0235>
- **Mathur, S. et Singh. R. (2005).** Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria- a review. *Int. J. Food Microbiol.* 105: 281- 295.
 - **McPhee, J. B., Lewenza, S. and Hancock, R. E. (2003).** Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 50(1): 205-17.
- **Méar J B, (2014).** Etude de la modulation de la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* par *Candida albicans* dans un modèle de pneumonie. Thèse de Doctorat. Université de Lille II, France.
- **Meliani, S., Toumi, S., Djahoudi, H., Deghdegh, K., Amoura, K., & Djahoudi, A. (2020).** Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacine or ciprofloxacin against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem-resistant isolated in Annaba hospital Algeria. *Biocell*, 44(2), 175.

- **Mellouk F, Z., & Meradji S. (2018).** Phenotypic detection methods of metallo- β -lactamases-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in urology ward from Skikda hospital Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 12(2), 38-45.
- **Meradji S. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* : Facteurs de virulence et Evaluation de la résistance aux bêta-lactamines et aux Quinolones, Thèse de Doctorat.
- **Meradji, S., Barguigua, A., Bentakouk, M. C., Nayme, K., Zerouali, K., Mazouz, D., Chettibi, H., & Timinouni, M. (2016).** Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 42(4), 906–918. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2016.02.023>
- **Meradji, S., Barguigua, A., Zerouali, K., Mazouz, D., Chettibi, H., Elmdaghri, N., & Timinouni, M. (2015).** Epidemiology of carbapenem non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Eastern Algeria. *Antimicrobial resistance and infection control*, 4, 27. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0067-2>
- **Mérens A, Delacour H, Plésiat P, Cavallo JD, Jeannot K.(2011).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*. ;435:49-62.
- **Merradi, M., Kassah-Laouar, A., Ayachi, A., Heleili, N., Menasria, T., Hocquet, D., Cholley, P., & Sauget, M. (2019).** Occurrence of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an Algerian hospital. *Journal of infection in developing countries*, 13(4), 284–290. <https://doi.org/10.3855/jidc.10679>
- **Meryem Iraz, Azer Ozad Duzgun, Aysegul Copur Cicek, Rémy A. Bonnin, Aysénour Ceylan, Aysegul Saral, Patrice Nordman, Cemal Sandalli (2014).** Caractérisation de la nouvelle carbapénémase VIM, VIM-38, et première détection des β -lactamases GES-5 hydrolysant les carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa* en Turquie, Informations sur les sources Mars 2014, Le volume 78 (Publier 3) P 292- 294 -Microbiologie diagnostique et maladies infectieuses.
- **Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., Van Eldere, J., Glupczynski, Y., Van Laethem, Y., Jacobs, F., Lebecque, P., Malfroot, A., Tulkens, P. M., & Van Bambeke, F. (2007).** *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(6), 560–578. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01681.x>
- **Mesli, E., Berrazeg, M., Drissi, M., Bekkhoucha, S. N., & Rolain, J. M. (2013).** Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 17(9), e739–e743. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.02.024>

- **Metuor Dabire A. (2014).** Caractérisations moléculaire et cinétique des types de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) de souches bactériennes collectées au Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles De Gaulle (CHUP-CDG) de Ouagadougou [Thèse Doctorat], l'Université de Ouagadougou
- **Mezaache S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la Rhizosphère de la pomme de terre. Université Ferhat Abbas, Sétif
- **Mirsalehian, A., Feizabadi, M., Nakhjavani, F. A., Jabalameli, F., Goli, H., & Kalantari, N. (2010).** Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 36(1), 70–74. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.01.015>
- **Mojisola C. Sandeep H, Vasaikar D., Grace E. Okuthe et Apalata T (2021).** Détection de gènes de bêta-lactamase à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* isolés chez des patients de la province rurale du Cap oriental, en Afrique du Sud doi : 10.1038 / s41598-021- 86570..
- **Monlezun L. (2013).** Etudes structurales et fonctionnelles de la pompe d'efflux *MexAB-OprM* impliquée dans la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*. Médecine humaine et pathologie. Université René Descartes- Paris V. Français. NNT: 2012PA05P644.
- **Moskowitz, S. M., Ernst, R. K. and Miller, S. I. (2004).** PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol* **186**(2): 575-9.
- **Muylaert A, Mainil J G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*; 156:109-123
- **Naas T. (2003).** Phénotype de résistance aux antibiotiques de la souche *Acinetobacter baumannii* productrice de la β -lactamase VEB-1. Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène (P. Nordmann), CHU de Bicêtre. *Journal of Clinical Microbiology*; 41: 3542-7.
- **Nabti L Z, Sahli F, Hadjadj L, Edgarthe P, Ngaiganam, David Lupande-Mwenebitu, Rolain J-M, Seydina M D (2019).** Autochthonous case of mobile colistin resistance gene *mcr-1* from a uropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance* 19, 356-357.
- **Nabti, L. Z., Sahli, F., Ngaiganam, E. P., Radji, N., Mezaghcha, W., Lupande-Mwenebitu, D., Baron, S. A., Rolain, J. M., & Diene, S. M. (2020).** Development of real-time PCR assay allowed describing the first clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate harboring plasmid-mediated colistin resistance *mcr-8* gene in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 20, 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.08.018>

- **Nickel, J.C., Ruseska, I., Wright, J.B., and Costerton, J.W. (1985)** Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother* 27: 619-624
- **Nikaido, H., Nikaido, K., & Harayama, S. (1991)**. Identification and characterization of porins in *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of biological chemistry*, 266(2), 770–779.
- **Nordmann P. (2003)**. Mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa* [Mechanisms of resistance to betalactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*]. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation*, 22(6), 527–530. [https://doi.org/10.1016/s0750-7658\(03\)00170-9](https://doi.org/10.1016/s0750-7658(03)00170-9)
- **Ntsogo Enguene V. Y (2016)**. Nouvelle approche dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques des bactéries colonisant les poumons des patients atteints de mucoviscidose: reconstitution d'une pompe d'efflux de *Pseudomonas aeruginosa* [Thèse Doctorat], Université Paris Descartes.
- **Oliveira, D. M. P. D., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., et al. (2020)**. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 33. doi:10.1128/CMR.00181-19.
- **Opatowski M. (2020)**. Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé, Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Saclay
- **Palleroni, N. J. (2010)**. The *Pseudomonas* Story. *Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02041.x>
- **Pasteran, F., Faccone, D., Petroni, A., Rapoport, M., Galas, M., Vázquez, M., & Procopio, A. (2005)**. Novel variant (bla(VIM-11)) of the metallo- β -lactamase bla(VIM) family in a GES-1 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Argentina. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(1), 474–475. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.474-475.2005>
- **Patzer, J., Toleman, M., Deshpande, L., Kaminska, W., Dzierzanowska, D., Bennett, P. M., Jones, R. N. & Walsh, T. R. (2004)**. *Pseudomonas aeruginosa* strains harbouring an unusual blaVIM-4 Gene cassette from hospitalized children in Poland (1998–2001). *Antimicrob Agents Chemother* 53, 451–456..
- **Perdu, C. (2013)**. Etude de deux protéines impliquées dans l'injection de toxines par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse Doctorat, L'université De Grenoble
- **Pitout, J.D., D.B. Gregson, L. Poirel, J-A. McClure, P. Le, et D. L. Church. (2005)**. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo- β -Lactamases in a Large Centralized Laboratory. *Journal Of Clinical Microbiology* 43 (7) : 3129-3135.
- **Pitt, T. L. 1998**. *Pseudomonas, Burkholderia*, and related genera, p. 1109-1138. In B. I. Duerden (ed.), *Microbiology and microbial infections*, vol. 2. Oxford University Press Inc., New York, NY

- **Poirel, L., & Nordmann, P. (2015).** Rapidec Carba NP test for rapid detection of carbapenemase producers. *Journal of clinical microbiology*, 53(9), 3003-3008.
- **Poole K.(2005).** Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(2) : 479-87
- **Poole, K. (2011).** *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. *Frontiers in Microbiology*, 2(65), 1–13. doi: 10.3389/fmicb.2011.00065.
- **Ramirez,M.S., Tolmasky,M.E. (2010).** Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat* 13: 151
- **Ranellou K, Kadlec K, Poulou A, Voulgari E, Vriani G, Schwarz S,Et al (2012).** Detection of *Pseudomonas aeruginosa* isolates of the International clonal complex 11 carrying the blaPER-1 Extended-spectrum b-lactamase gene in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2012 ;67(2) :35761, doi :<http://dx.doi.org/10.1093/Jac/dkr471>.
- **Rocchetta, H. L., Burrows, L. L. and Lam, J. S. (1999).** Genetics of O-antigen biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Mol Biol Rev* 63(3): 523-53.
- **Sadikalay S. (2018).** Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement, en Guadeloupe [Thèse Doctorat], Université Des Antilles
- **Sadikot, R. T., Blackwell, T. S., Christman, J. W., & Prince, A. S. (2005).** Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(11), 1209–1223. <https://doi.org/10.1164/rccm.200408-1044SO>
- **Sales AJ, Fathi R, Mobaiyen H, Bonab FR, Kondlaji KB,Sadeghnezhadi M.** Molecular study of the prevalence of CTX-M1, CTX-M2, CTX-M3 in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Clinical samples in Tabriz Town, Iran. *Electron J Biol*.
- **Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977).** DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- **Schneider, I., Keuleyan, E., Rassofer, R., Markovska, R., Queenan, A. M. & Bauernfeind, A. (2008).** VIM-15 and VIM-16, two new VIM-2 like metallo-b-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Bulgaria and Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 52, 2977–2979.
- **Sefraoui I., (2015).** Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de Doctorat. Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaïd
- **Sefraoui, I., Berrazeg, M., Drissi, M., & Rolain, J. M. (2014).** Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains isolated from western Algeria between 2009 and 2012. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 20(2), 156–161. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0161>

- **Sirot, J. (1996).** Detection of extend-spectrum plasmid mediated betalactamases by disk diffusion. *Clin Microbiol Infect* 2: 35–9
- **Solbi S. 2013.** Effet du repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* sur les caractères morphologiques, biochimiques et sensibilités aux antibiotiques. Thèse de Doctorat, université Mohammed V, Rabat
- **Stewart,P.S. (2002)** Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Int J Med Microbiol* 292: 107-113
- **T. Strateva et D. Yordanov 2009** *Pseudomonas aeruginosa* a phenomenon of bacterial resistance *Journal of Medical Microbiology* (2009), 58, 1133-1148
- **Tada, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kato, Y., Ohmagari, N., Takeshita, N., Hung, N. V., Phuong, D. M., Thu, T. A., Binh, N. G., Anh, N. Q., Nga, T. T., Truong, P. H., Xuan, P. T., Thu, I., Son, N. T., & Kirikae, T. (2013).** Emergence of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in hospitals in Vietnam. *BMC infectious diseases*, 13, 251. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-251>
- **Taghrid S. El-Mahdy (2014).** Identification of a Novel Metallo-b-Lactamase VIM-28 Located within Unusual Arrangement of Class 1 Integron Structure in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Egypt, *Jpn. J. Infect. Dis.*, 67, 382–384.
- **Tchakal-Mesbahi, A., Metref, M., Singh, V. K., Almpani, M., & Rahme, L. G. (2021).** Characterization of antibiotic resistance profiles in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 47(8), 1833–1843. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2021.03.005>
- **Terki Hassaine.S (2016).** Diagnostic bactériologique des infections urinaires à *Pseudomonas aeruginosa* dans les services de réanimation et d'urologie au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de master
- **Toleman, M. A., Rolston, K., Jones, R. N. & Walsh, T. R. (2004).** blaVIM-7, an evolutionarily distinct metallo-b-lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 48, 329–332.
- **Touati, M., Diene, S. M., Dekhil, M., Djahoudi, A., Racherache, A., & Rolain, J. M. (2013).** Dissemination of a class I integron carrying VIM-2 carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital intensive care unit in Annaba, Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(5), 2426–2427. <https://doi.org/10.1128/AAC.00032-13>
- **Trias, J. and H. Nikaido (1990).** “Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*.” *Antimicrob Agents Chemother* 34(1): 52-57
- **Vallée.M (2015).** Résistance aux β -lactamines à large Spectre chez les bactéries à gram négatif Épidémiologie et diagnostic, University Laval.thèse de doctocat.

- **Vettoretti L. (2009).** Adaptation des Mécanismes de Résistance par Efflux Actif chez les Souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans la Mucoviscidose. Bactériologie. Université de Franche-Comté,. Français.
- **Viedma E, Juan C, Villa J, Barrado L, M. Ángeles Orellana, Francisca Sanz, Joaquín R. Otero, Antonio Oliver, and Fernando Chaves (2012).** VIM-2–producing Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST175 Clone, Spain. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 18, No. 8, August 2012.
- **Vora S., Auckenthaler R., (2009).** Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique ?. Revue Médicale Suisse. Page 99
- **Walsh, C. (2003)** Antibiotics: Actions, Origins, Resistance. *ASM Press* 335 pages
- **Walters,M.C., III, Roe,F., Bugnicourt,A., Franklin,M.J., and Stewart,P.S. (2003)** Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 317-323
- **Wang Y, Tian G-B, Zhang R, Shen Y, Tyrrell JM, Huang X, Zhou H, Lei L, Li H-Y, Doi Y, Fang Y, Ren H, Zhong L-L, Shen Z, Zeng K-J, Wang S, Liu J-H, Wu C, Walsh TR et Shen J (2017).** Prevalence, risk factors, outcomes, and molecular epidemiology of mcr-1-positive Enterobacteriaceae in patients and healthy adults from China: an epidemiological and clinical study. *The Lancet Infectious Diseases* 17:390-399.
- **Wang, C. Y., J. S. Jerng, et al. (2006).** "Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalised patients: clinical features, risk-factors and outcomes." *Clin Microbiol Infect* 12(1): 63-68
- **Xavier BB, Lammens C, Ruhai R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H et Malhotra-Kumar S (2016)** Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro surveillance* 21.
- **Yanat, B., Machuca, J., Yahia, R. D., Touati, A., Pascual, Á., & Rodríguez-Martínez, J. M. (2016).** First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *International journal of antimicrobial agents*, 48(6), 760–761. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.003>
- **Yang Y-Q, Li Y-X, Lei C-W, Zhang A-Y, Wang H-N. (2018).** Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*.
- **Yin W, Li H, Shen Y, Liu Z, Wang S, Shen Z, Zhang R, Walsh TR, Shen J et Wang Y (2017)** Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *MBio* 8:e00543-00517.
- **Yokoyama, K., Doi, Y., Yamane, K., Kurokawa, H., Shibata, N., Shibayama, K., Yagi, T., Kato, H. and Arakawa, Y. (2003).** Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet* 362(9399): 1888-93.

- **Zafer M. M, Al - Agaamy M. H, El - Mahallawy H.A, Magdy A.A et Ashour S.E (2015).**Dissémination de VIM-2 producteur de *Pseudomonas aeruginosa* ST233 dans les hôpitaux de soins tertiaires.
- **Ziai,S. (2014).** La Resistance Bacterienne Aux Antibiotiques : Apparition Et Strategies De Lutte. Thèse Doctorat. Universite De Limoges.
- **Ziai,S. (2014).** La Resistance Bacterienne Aux Antibiotiques : Apparition Et Strategies De Lutte. Thèse Doctorat. Universite De Limoges.
- **Zidoune,S., Benbelkacem,Y. (2020).** Etude de l'antébio-résistance chez *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de Master
- **Zoghlami, A Thabet, L.,, Kanzari, L., Boukadida, J., Messadi, AA, & Ghanem, A. (2012).** Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre de brûlures et de traumatologie en Tunisie sur une période de trois ans. La Tunisie médicale, 90 (11), 803-806
- **Zomahoun, C.IN.P. (2005).** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire-Hubert Koutoukou Maga (C.N.H.U.H.K.M.). These de doctorat d'état, Université du Mali.
- (<https://m.20-bal.com/law/19378/index.html>).
- (<https://pharmacomedicale.org/>).
- (https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Pseudomonas.pdf)

ANNEXES

Annexe 1 : Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux β -lactamines des souches cliniques de *P. aeruginosa* : première étude en Algérie



Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Médecine et maladies infectieuses 38 (2008) 187–191

Médecine et
maladies infectieuses

<http://france.elsevier.com/direct/MEDMAL/>

Original article

Antibiotic susceptibility and mechanisms of β -lactam resistance among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*: First report in Algeria

Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance aux β -lactamines des souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* : première étude en Algérie

M. Drissi^a, Z. Baba Ahmed^a, B. Dehecq^c, R. Bakour^b,
P. Plésiat^{c,d,e,*}, D. Hocquet^{c,d,e,*}

^a Laboratoire « Antibiotiques-Antifongiques », université Abou Bekr Belkaid, B.P. 119, Tiemcen 13000, Algeria

^b Laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire, université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, B.P. 32, El-Alia, Bab Elzouar, Alger 16111, Algeria

^c Centre national de référence « Résistance aux antibiotiques : *Pseudomonas aeruginosa* », hôpital Jean-Minjoz, 1, boulevard Fleming, Besançon cedex 25030, France

^d Laboratoire de bactériologie, hôpital Jean-Minjoz, Besançon 25030, France

^e Faculté de médecine-pharmacie, université de Franche-Comté, France

Received 17 September 2007; accepted 21 January 2008

Available online 18 April 2008

Abstract

Objective. – *Pseudomonas aeruginosa* is a major causative agent of hospital infections. Studies on this subject being rare in Algeria, we determined the antibiotic susceptibility of *P. aeruginosa* and investigated the mechanisms of β -lactam resistance and the spread of multidrug resistant strains in the university affiliated Hospital of Tiemcen (Algeria).

Design. – One hundred and ninety-nine consecutive strains of *P. aeruginosa* were collected between November 2005 and February 2007. MICs of antibiotics were measured by the agar dilution method. The resistance mechanisms to β -lactams were identified phenotypically or by molecular methods (isoelectrofocusing, PCR and sequencing). Strains expressing a secondary β -lactamase were serotyped and genotyped (Random Amplified Polymorphic DNA).

Results. – The proportion of susceptible isolates were: ticarcillin (56%), piperacillin–tazobactam (81%), ceftazidime (88%), cefepime (80%), aztreonam (64%), imipenem (65%), amikacin (83%), tobramycin (81%) and ciprofloxacin (97%) according to the French CASFM breakpoints. Resistance to β -lactams was linked to the production of transferable β -lactamases (16%), overproduction of cephalosporinase AmpC (12%) and/or non-enzymatic mechanisms such as the loss of porin OprD (35%) and overproduction of the active efflux system MexAB-OprM (24%). High level resistance to ticarcillin was due to the expression of β -lactamase OXA-10 alone or associated with TEM-110. A genotypic analysis revealed the spread of a multidrug resistant epidemic clone expressing these two acquired β -lactamases in the surgical ICU.

Conclusions. – This study shows that resistance to antibiotics, in particular to imipenem of *P. aeruginosa*, is becoming a cause of concern in the Hospital of Tiemcen.

© 2008 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Résumé

Objectifs. – *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène nosocomial opportuniste majeur. En raison du manque de donnée sur ce sujet en Algérie, nous avons déterminé la sensibilité aux antibiotiques de *P. aeruginosa* dans l'hôpital universitaire de Tiemcen (Algérie), identifié les mécanismes de résistance aux β -lactamines et documenté la diffusion des souches multirésistantes.

* Corresponding author.

E-mail address: dhocquet@chu-besancon.fr (D. Hocquet).

Annexe 2: Dissemination of a class I integron carrying VIM-2 Carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital intensive care unit in Annaba, Algeria



LETTER TO THE EDITOR

Dissemination of a Class I Integron Carrying VIM-2 Carbapenemase in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from a Hospital Intensive Care Unit in Annaba, Algeria

Meriem Touati,^{a,b} Seydina M. Diene,^a Mazouz Dekhil,^c Abdelghani Djahoudi,^d Abdelkarim Racherache,^e Jean-Marc Rolain^a

Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE), CNRS-IRD, UMR 6236, Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille-Université, Marseille, France^a; Département de Biochimie, Université Badj Mokhtar, Annaba, Algeria^b; Laboratoire Central de Microbiologie, CHU de Annaba, Annaba, Algeria^c; Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine, Université Badj Mokhtar, Annaba, Algeria^d; Service de Réanimation, CHU d'Annaba, Annaba, Algeria^e

Over the last decade, the increase of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* has been due mostly to impermeability because of OprD loss and the production of metallo- β -lactamases (MBL), including those of the IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, AIM-1, FIM-1, and NDM families (1–4); also, active efflux and serine carbapenemases may contribute to carbapenem resistance in *P. aeruginosa* in some cases. VIM-1 was reported in the Mediterranean area in 1997 in a clinical isolate of *P. aeruginosa* in Verona, Italy (5), and in a clinical isolate of *Pseudomonas mosselii* isolated in 1994 in Genoa, Italy (6). A VIM-2 variant appeared in Marseille, France, in 1996 (7). VIM-2 has now spread as the predominant MBL variant among *P. aeruginosa* in all European Mediterranean countries (1), but in North Africa, the presence of VIM-2 has been reported only recently in Tunisia (2, 8, 9). Here we report the first molecular characterization of VIM-2-producing *P. aeruginosa* clinical isolates from Algeria that harbored a novel class I integron that also contained two gene cassettes encoding resistance to aminoglycosides (*aadB* and *aacA4*).

A total of 17 nonreplicate imipenem-resistant *P. aeruginosa* clinical isolates (imipenem MIC, >8 $\mu\text{g/ml}$), as determined by the Etest) recovered from December 2010 to September 2011 in a

surgical intensive care unit at the University Hospital of Annaba, Algeria, were screened by PCR for the presence of MBL-encoding genes using primers previously described (10–12). Antibiotic susceptibility testing was performed using disk diffusion with the breakpoints and according to the guidelines of the Antibiogram Committee of the French Society for Microbiology (CA-SFM) (www.sfm-microbiologie.org), and results are summarized in Table 1. An imipenem-EDTA synergy test (13) was positive for 14 out of 17 strains that were PCR positive for VIM-2 carbapenemase using the universal primers VIM-all-F (5'-TGGTCTACATGACC GCGTCT-3') and VIM-all-R (3'-CGACTGAGCGATTTGTGT G-5'), with an expected PCR size of 766 bp. The characterization of class I integrons reported previously (11) showed a novel class I

Published ahead of print 4 March 2013

Address correspondence to Jean-Marc Rolain, jean-marc.rolain@univ-amu.fr.

MT. and S.M.D. contributed equally to this work.

Copyright © 2013, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

doi:10.1128/AAC.00032-13

TABLE 1 Phenotypic and genotypic features of the 17 imipenem-resistant *P. aeruginosa* clinical isolates^a

Strain	Date of isolation (day/mo/yr)	Patient age	Sex	Source	IMP MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Resistance phenotype								VIM-2 production	Sequence type	
						TIC	TCC	TZP	CAZ	GEN	CIP	FOS	COL			
1	15/12/2010	42 yr	M	Bronchial aspirate	12	R	R	R	R	R	S	S	S	+	ST1420	
2	15/12/2010	18 yr	F	Blood	32	R	R	R	R	R	S	S	S	+	ST1420	
3	28/12/2010	18 mo	M	Bronchial aspirate	12	R	R	R	R	R	S	S	S	+	ST162	
4	25/02/2011	2 mo	M	Bronchial aspirate	8	R	R	R	R	R	R	R	S	+	ST1420	
5	27/02/2011	7 yr	M	Bronchial aspirate	16	R	R	R	R	R	R	R	S	+	ST1420	
6	08/03/2011	7 days	M	Bronchial aspirate	32	R	R	R	R	R	S	S	R	S	+	ST1420
7	22/03/2011	57 yr	M	Urinary catheter	12	R	R	R	R	R	R	S	S	S	+	ST1420
8	23/03/2011	43 yr	M	Urinary catheter	32	R	R	R	R	R	S	S	R	S	+	ST1420
9	18/04/2011	35 yr	M	Urine	12	R	R	R	R	R	S	S	R	S	+	ST1420
10	25/05/2011	7 yr	M	Pus	16	R	R	R	R	R	R	S	R	S	+	ST1420
11	19/06/2011	46 yr	M	Urine	16	R	R	R	R	R	S	R	S	S	+	ST1420
12 ^b	22/06/2011	58 yr	F	Bronchial aspirate	32	R	R	R	R	R	S	S	S	–	ST1175	
13 ^c	22/07/2011	40 yr	M	Bronchial aspirate	32	R	R	R	R	R	S	S	R	S	–	ST1420
14	18/08/2011	54 yr	M	Wound	16	R	R	R	R	R	S	S	S	+	ST1420	
15	27/08/2011	5 yr	M	Wound	12	R	R	R	R	R	S	S	R	S	+	ST1420
16 ^d	10/09/2011	10 yr	M	Urine	16	R	R	R	R	R	R	R	S	–	ST654	
17	27/08/2011	45 yr	M	Wound	12	R	R	R	R	R	R	S	S	+	ST1420	

^a CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; COL, colistin; FOS, fosfomicin; GEN, gentamicin; TCC, ticarcillin-clavulanic acid; TIC, ticarcillin; TZP, piperacillin-tazobactam; M, male; F, female; R, resistant; S, susceptible. MICs were determined by the Etest.

^b Contains a ₃₂₂CGA-to-TGA mutation, leading to a stop codon in the oprD gene.

^c Exhibits a ₂₇₃TCA-to-TCA deletion, leading to a stop codon in the oprD gene.

^d Contains a ₇₂₀TCC-to-TAG mutation, leading to a stop codon in the oprD gene.

Annexe 3: Molecular Epidemiology of Carbapenem Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains Isolated from Western Algeria between 2009 and 2012

MICROBIAL DRUG RESISTANCE
Volume 20, Number 2, 2014
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/mdr.2013.0161

Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains Isolated from Western Algeria Between 2009 and 2012

Imane Seifraoui,^{1,2} Meryem Berrazag,^{1,2} Mourad Drissi,² and Jean-Marc Rolain¹

Infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains represent a major therapeutic and epidemiological problem. The aim of this study was to characterize carbapenem resistance in 89 clinical strains of *P. aeruginosa* isolated from three hospitals in western Algeria between October 2009 and November 2012. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of imipenem were determined by the Etest[®] method. Screening for metallo- β -lactamase (M β L) was performed using Etest M β L strips, and a PCR was conducted to detect carbapenemase-encoding genes. The amplification of the *oprD* gene followed by a sequencing reaction was performed for all strains resistant to imipenem. The clonality of 53 *P. aeruginosa* strains was demonstrated using multilocus sequence typing (MLST). Among the 89 isolates, 35 (39.33%) were found to be resistant to IMP (MICs $\geq 16 \mu\text{g/ml}$). The *bla*_{VIM-2} gene was detected in two strains. The remaining imipenem-resistant isolates showed the presence of *oprD* mutations. The MLST analysis differentiated strains into various clones and the strains from the same clone had an identical sequence of the *oprD* gene. We report the second detection in 2010 of *bla*_{VIM-2} in Algerian *P. aeruginosa* strains. We also found that *oprD* mutations were the major determinant of high-level imipenem resistance. We demonstrate that these *oprD* mutations can be used as a tool to study the clonality in *P. aeruginosa* isolates.

Introduction

PSEUDOMONAS AERUGINOSA IS A nosocomial pathogen that causes infections with a high mortality rate.²⁷ The treatment of these infections is often difficult because of the natural and acquired resistance of this organism to several antibiotics, particularly β -lactam antibiotics. Among the mechanisms of acquired resistance to imipenem, Class B metallo- β -lactamases (M β Ls) induce resistance to all β -lactams except aztreonam. Several types of M β Ls have been described worldwide in *P. aeruginosa* isolates (IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, AIM, FIM, and NDM).²⁸ Of the M β Ls, VIM types are the most frequent, with countries worldwide reporting their presence.⁵ Closely to Algeria, the VIM types have been identified in carbapenem-resistant isolates of *P. aeruginosa* in the Mediterranean basin from European countries (Italy,^{6,17,21,29} France,¹ Greece, Spain,^{13,24,26} Croatia,^{31,32} and Turkey^{2,26}) and from African countries (Tunisia,^{9,10,15} Kenya,²⁵ and South Africa¹¹). Recently, we have reported the first molecular characterization of VIM-2-pro-

ducing *P. aeruginosa* clinical isolates from an intensive care unit at the University Hospital of Annaba, Algeria,³⁵ but no M β Ls have been identified in western Algeria for *P. aeruginosa* strains to date.

In the absence of acquired carbapenemases, mutational inactivation of *oprD* is the main mechanism of carbapenem resistance. The outer membrane protein OprD regulates the entry of carbapenems.¹⁸ The loss of OprD function has been shown to play a major role in the acquired resistance to imipenem, with a lesser extent to meropenem.^{19,20}

Epidemiological typing is useful in determining the relatedness of nosocomial pathogens. Many schemes for the molecular typing of *P. aeruginosa* have been developed, including pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), ribotyping, PCR-based fingerprinting, and multilocus sequence typing (MLST).^{7,12,27}

In this study, we evaluate the carbapenem resistance in *P. aeruginosa* from western Algeria, we describe the inactivating mutations of *oprD*, and we report the emergence of the VIM-2 enzyme. We also determine the clonal relationships

¹Aix-Marseille Université, Unité de Recherche en Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE), UME3, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095, IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Marseille, France.

²Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques: physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Tlemcen, Algérie.

Annexe 4: Epidemiology of carbapenem non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Eastern Algeria

Meradji et al. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (2015) 4:27
DOI 10.1186/s13756-015-0067-2



RESEARCH

Open Access



Epidemiology of carbapenem non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Eastern Algeria

Samah Meradji¹, Abouddihaj Barguigua^{2,3}, Khalid Zerouali³, Dekhl Mazouz⁴, Houia Chettibi¹, Naima Elmdaghri² and Mohammed Timouni^{2*}

Abstract

Background: Carbapenem resistance among *Pseudomonas aeruginosa* has become a serious life-threatening problem due to the limited therapeutic options. In this study, we investigated the prevalence and the molecular epidemiology of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) isolated from three hospitals in Annaba city, Algeria.

Methods: During the study period (January, 2012 to December, 2013), all patients infected by *P. aeruginosa* were considered as the potential study population. Antibiotic susceptibility testing was performed as recommended by the CLSI. Screening of carbapenemase producer isolates was performed by using imipenem-EDTA double-disk synergy test and modified Hodge test. CRPA isolates were tested for the presence of genes encoding β -lactamases, plasmid mediated quinolone resistance, aminoglycoside resistance and class 1 integrons were investigated by PCR and sequencing. The clonal relatedness among CRPA isolates was analyzed by pulsed-field gel electrophoresis method. The clinical data were collected to identify risk factors for CRPA carriage of *P. aeruginosa* infection.

Results: The overall prevalence of CRPA was 18.75 %. The risk factors for carrying CRPA were the length of hospital stay ($p = 0.04$), co-infections with *Staphylococcus aureus* ($p = 0.01$), and the use of urinary catheter ($p = 0.03$). The in-hospital mortality rate among case patients was 13.33 % compared with 1.53 % for control patients ($p = 0.09$). All CRPA isolates were multidrug resistance and the most effective antibiotic against CRPA isolates was amikacin and colistin. PFGE revealed an epidemic clonal dissemination of CRPA isolates. None of CRPA isolated were found to be carbapenemase-producers. The *bla*_{SHV-1} and *aac*(3)-II gene was detected in two and five strains respectively. The class 1 integrons were detected in 2 isolates with the presence of *aadA7* gene cassette in these integrons.

Conclusion: The endemic clonal dissemination and multi-drug resistance of CRPA isolates in our institution is highly alarming. Strict measure will be required to control the further spread of these pathogens in hospital setting.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Prevalence, Risk factors, Carbapenem resistance

Background

Pseudomonas aeruginosa is one of the major opportunistic and nosocomial pathogen that causes many severe and often fatal infections, especially in immunocompromised patients or those with underlying diseases [1]. Multidrug resistant *P. aeruginosa* isolates have been detected in hospitals worldwide and associated with increased mortality and

costs due to prolonged hospitalization, need of surgery, and prolonged treatment with antibiotics [2]. Increasing resistance in *P. aeruginosa* isolates complicates the selection of adequate empirical therapy in severe infections. Carbapenems are potent broad spectrum β -lactam antibiotics, and one of the few remaining agents that have reliable activity against *P. aeruginosa* [1–3]. However, increased prevalence of resistance to carbapenems among these organisms has been noted [2]. Resistance against carbapenems by *P. aeruginosa* may occur through different mechanisms including: loss of the outer membrane porin OprD

* Correspondence: mohammedtimouni@peibour.ma

²Molecular Bacteriology Laboratory, Pasteur Institute of Morocco, 1, Place Louis Pasteur, 20960, Guelbencia, Morocco

Full list of author information is available at the end of the article



© 2015 Meradji et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.



Annexe 5: Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*

Journal of Global Antimicrobial Resistance 7 (2016) 135–140

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Global Antimicrobial Resistance

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/jgar

Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: Multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*

Widad Bouguenoun^{a,b}, Sofiane Bakour^a, Ahmed Aïmen Bentorki^c, Charbel Al Bayssari^a, Tarek Merad^d, Jean-Marc Rolain^{a,*}

^aUnité de recherche sur les maladies infectieuses et tropicales émergentes (UIMITE), UM 63, CNRS 7278, INS 198, INSERM 1095, IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille Université, Marseille, France

^bLaboratoire de Biochimie et Microbiologie appliquée, Université de Annaba, Annaba, Algeria

^cLaboratoire de Microbiologie, CHU Dohar, Annaba, Algeria

^dLaboratoire d'Antibiogramme et de Phages, Université de Annaba, Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:
Received 21 July 2016
Received in revised form 16 August 2016
Accepted 22 August 2016
Available online 17 October 2016

Keywords:
Gram-negative bacilli
Carbapenemase
Hospital environment
Nosocomial infection

ABSTRACT

This study was designed to investigate environmental colonisation in Algerian hospitals by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli (GNB), including molecular characterisation of their resistance, and to perform a comparative molecular analysis between clinical and environmental strains. GNB isolated from hospitalised patients and the hospital environment were identified using microbiological methods and matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). Antibiotic susceptibility testing was performed by disk diffusion and E-test methods. Carbapenemase- and extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-encoding genes were searched for using PCR and sequencing. Clonality of the environmental and clinical strains was assessed by multilocus sequencing typing (MLST). A total of 32 carbapenem-resistant GNB were isolated, including 16 (29%) of 56 multidrug-resistant (MDR) GNB from clinical specimens and 16 (48%) of 33 MDR-GNB from inanimate surfaces. Of the 32 carbapenem-resistant isolates, 14 produced a carbapenemase. The *bla*_{OXA-48} gene was detected both in clinical and surface isolates of *Klebsiella pneumoniae* ($n=3$) and *Enterobacter cloacae* ($n=2$). Clinical and surface isolates of *Acinetobacter baumannii* were found to produce the carbapenemases NDM-1 (7 isolates) and OXA-23 (2 isolates). MLST revealed clonal diversity and a relationship between environmental and clinical strains with identical sequence types. Here we report the first description of an OXA-48-producing *E. cloacae* isolate in Algeria. We also highlight the important role of inanimate surfaces in the spread of carbapenem-resistant bacteria and the emergence of nosocomial infections. © 2016 International Society for Chemotherapy of Infection and Cancer. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The spread of a nosocomial outbreak often originates in cross-contamination, and the most common means of pathogen transmission occurs between the hands of healthcare professionals, hospital equipment and patients [1,2]. Many of these nosocomial infections are caused by drug-resistant bacteria [3], with an increasing predominance of Gram-negative organisms [4].


Carbapenem resistance in Gram-negative bacilli (GNB) has now become a major concern worldwide. It can arise through non-enzymatic mechanisms such as alteration of outer membrane proteins and/or through the acquisition of resistance genes encoding β -lactamase enzymes, including Ambler class A, Ambler class B (metallo- β -lactamases) and Ambler class D (oxacillinases) [5]. Moreover, carbapenemases are now an increasing concern for global health care owing to their association with resistance to β -lactam antibiotics and other classes of antibiotics. Thus, they reduce the possibility of treating infections caused by multidrug-resistant (MDR) Gram-negative strains [6].

* Corresponding author. Fax: +33 4 91 38 77 72.
E-mail address: jean-marc.rolain@univ-amu.fr (J.-M. Rolain).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.011>
2213-7165/© 2016 International Society for Chemotherapy of Infection and Cancer. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Annexe 6: Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria

BUR-485, No. of Pages 13**ARTICLE IN PRESS**
BURNS XXX (2016) XXX-XXX




ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/burns



BURNS

Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria

Samah Meradji^a, Abouddihaj Barguigua^{b,c}, Mohamed cherif Bentakouk^d, Kaotar Nayme^{b,c}, Khalid Zerouali^c, Dekhil Mazouz^e, Houria Chettibi^a, Mohammed Timinouni^{b,*}

^aBiochemistry and Applied Microbiology Laboratory, Badji Mokhtar Faculty of Sciences, Department of Biology, Annaba University, Box 12 Sidi Amar, 23000 Annaba, Algeria

^bMolecular Bacteriology Laboratory, Institut Pasteur du Maroc, 1 Place Louis Pasteur, 20360 Casablanca, Morocco

^cMicrobiology Laboratory, Faculty of Medicine and Pharmacy, 1 Street Hospital, 20360 Casablanca, Morocco

^dResuscitation Center and Burns Treatment, University Hospital Ibn Rochd, 23000 Annaba, Algeria

^eMicrobiology Laboratory, University Hospital Dorban, 23000 Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 23 February 2016

Keywords:
Pseudomonas aeruginosa
Prevalence
Risk factors
VIM
Carbapenem resistance

ABSTRACT

In this study, we investigated the prevalence of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) in burn patients from eastern Algeria, CRPA virulence factors and the molecular epidemiology of CRPA. The overall prevalence of CRPA was 48.38%. Seven (46.66%) isolates were metallo-β-lactamases (MBL) producers and contained the MBL genes *bla_{VIM-4}* (n = 6) and *bla_{VIM-2}* (n = 1). Risk factors for CRPA infection were urinary catheter use and intubation (p = 0.008). A high percentage of virulence factors (86.6% of these isolates were able to produce protease; 73.3% of isolates has DNase; and 66.6% were haemolysin positive) was observed in CRPA isolates. Among the seven MBL-producing isolates, four had the same clonal profile. The class 1 integrons, which contained the *aadA7* gene cassette, were detected in six isolates. The 16S rRNA methylase gene, *meB*, was detected in one strain. All CRPA isolates were biofilm formers. A study on the kinetics of biofilm production revealed that biofilm production increased when the concentration of imipenem or ciprofloxacin and the incubation time increased. This is the first study to report the presence of VIM-4-producing *P. aeruginosa* from North Africa and also of the high prevalence of CRPA isolates. Based on our study of burn unit patients, the high percentage of *P. aeruginosa* with virulence factors and multi-drug resistance is alarming.

© 2016 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

* Corresponding author. Tel.: +212 05 22 43 44 50; fax: +212 05 22 26 09 57.
E-mail address: mohammed.timinouni@pasteur.ma (M. Timinouni).
Abbreviations: CRPA, carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; CSPA, carbapenem-susceptible *P. aeruginosa*; MBLs, metallo-β-lactamases; MDR, multidrug-resistant; MICs, minimum inhibitory concentrations.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2016.02.023>
0805-4179/© 2016 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Meradji S, et al. Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria. Burns (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2016.02.023>

Annexe 7: Phenotypic detection methods of metallo- β -lactamases -producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in urology ward from Skikda hospital Algeria

Full Length Research Paper

Phenotypic detection methods of metallo- β -lactamases -producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in urology ward from Skikda hospital Algeria

Fatma Zohra Mellouk* and Sameh Meradji

Laboratory of Biochemistry and Applied Microbiology, Department of Biochemistry, Badji Mokhtar-Annaba University, Algeria.

Received 16 November, 2017; Accepted 29 December, 2017

Acquired metallo- β -lactamases (M β L) are emerging determinants of resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. The objectives of this study were to phenotypically detect M β L in *P. aeruginosa* collected in urology ward from Skikda hospital Algeria. A total of seventeen *P. aeruginosa* isolates were identified using API 20NE and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALD-TOFMS). Antibiotic susceptibility was performed using disk diffusion method on Muller-Hinton agar. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of imipenem were determined by Etest method. Positively screened isolates were further subjected to four different methods phenotypic; Modified Hodge test (MHT), Imipenem-EDTA combined disk test (CDT), Imipenem-EDTA double-disk synergy test (DDST) and new biochemical method Modified Carba NP test (MCNP). Out of 32 (45.71%) isolates were resistant to imipenem; 20 (62.5%) isolates were M β L producing, 5 (15.62%) were carbapenemase class A or D producing, and 7 (21.87%) isolates were detected as negative test. Rapid detection of M β L-producing *P. aeruginosa* may help inappropriate antimicrobial therapy and avoid the development and dissemination of these strains. Thus far, the validation of a simple and accurate M β L detection method such as CDT, DDST and MCNP test, can be easily incorporated into the daily routine of a clinical laboratory.

Key words: Phenotypic detection, *Pseudomonas aeruginosa*, Metallo- β -lactamases.

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruginosa is a well-known isolate in hospital settings, and has been frequently associated with nosocomial outbreaks among susceptible patients (Paterson, 2006). Owing to its persistence in the hospital environment, as a survival strategy an array of multidrug resistance mechanisms are often seen in such hospital isolates (Walsh et al., 2005).

In recent years, Algeria has been considered among the countries that reported high rates of antimicrobial resistance in *P. aeruginosa*. For this, carbapenems antibiotics are among the best choices for the treatment of infections caused by multi-drug-resistant *P. aeruginosa* isolates in our hospital and another region in the world especially with imipenem and ceftazidim, which are

*Corresponding author. E-mail: melloukzohra@hotmail.fr.

Author(s) agree that this article remains permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Annexe 8: Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria.

Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria

This article was published in the following Dove Press journal:
Infection and Drug Resistance

Nadjette Bourafa^{1,2}

Wafaa Chaalal^{1,4}

Sofiane Bakour¹

Rym Lalaoui¹

Nafissa Boutefnouchet²

Seydina M Diene¹

Jean-Marc Rolain¹

¹Aix Marseille Université, MEPHI, IHU-Méditerranée Infection, Marseille, France; ²Laboratoire de Microbiologie et Biochimie Asoalioué, Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algeria; ³Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Cherif Meazaad-Souk-ahras, Algeria; ⁴Laboratoire de Microbiologie Asoalioué, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Oran, Es Senta, Oran, Algeria

Objective: The aims of this study were to investigate the occurrence of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli (GNB) isolated from inpatients and outpatients in Algeria between July and September 2015, and to screen their resistance mechanisms and genetic relatedness.

Materials and methods: A total of 68 non-redundant isolates were identified using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) antibiotic susceptibility testing was performed using disk diffusion and E-test methods. Carbapenemase activity was carried out using modified Carba NP test, EDTA assay, and the modified Hodge test. Molecular characterization of carbapenemases and extended-spectrum β -lactamase (ESBL) genes were detected by standard PCR and sequencing. Genotyping of carbapenem-resistant isolates was performed by multilocus sequence typing (MLST) analysis.

Results: Of the 68 GNB isolates, 13 (19%) showed reduced susceptibility to carbapenems, including, four *Klebsiella pneumoniae*, one *Escherichia coli*, six *Acinetobacter baumannii*, and two *Pseudomonas aeruginosa*. *bla*_{OXA-48} gene was detected in the five Enterobacteriaceae isolates, and *bla*_{OXA-48} was identified in all *A. baumannii* isolates. *OprD* mutations were revealed in the two *P. aeruginosa* isolates. A total of 11 out of the 13 carbapenem-resistant GNB were detected in inpatients, and the two remaining strains were isolated from outpatients. Molecular typing showed the presence of four sequence types (STs) among the OXA-48-producing *K. pneumoniae* isolates: ST101, ST147, ST163, and ST2017. ST533 was identified for the OXA-48 producing *E. coli* isolate. All of the *A. baumannii* and *P. aeruginosa* were assigned to the international clonal lineages ST2 and ST654, respectively.

Conclusion: This study reports the first detection of the epidemic multidrug-resistant lineage, *K. pneumoniae* ST147 coproduced *bla*_{OXA-48} and ESBL genes in Algeria and represents the first description of OXA-48-producing *E. coli* ST533 and *K. pneumoniae* ST163 and ST2017. In addition, this study describes for the first time the emergence of OXA-48-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in the community in Algeria, leading to major problems for managing microbial infections.

Keywords: Gram-negative bacilli, carbapenem resistance, epidemic lineages, Algeria

Correspondence: Jean-Marc Rolain
Aix Marseille Université, MEPHI, IHU-
Méditerranée Infection, 19-21 Boulevard
Jean Moulin, 13005 Marseille, France
Tel: +33 4 91 32 43 75
Fax: +33 4 91 38 77 72
Email: jean-marc.rolain@univ-amu.fr

submit your manuscript | www.dovepress.com
Dovepress
http://dx.doi.org/10.1155/2016/210001

Introduction

Antibiotic resistance has increased dramatically over the last few years, and the incidence of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli (GNB) is rising in many countries around the world.¹ Carbapenems are considered as one of the last resorts for treating multidrug-resistant GNB,²⁻⁴ including ESBL-producing Enterobacteriaceae.⁵

Carbapenem resistance has been described in non-fermentative GNB (*Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*) and in Enterobacteriaceae,^{2,6} mainly in *Klebsiella pneumoniae* compared to *Escherichia coli* or other Enterobacterial species.^{2,3}

Infection and Drug Resistance 2016;11:735-742

735

© 2016 Rolain et al. This work is published and licensed by Dove Medical Press Limited. The full terms of this license are available at <http://www.dovepress.com/terms.php> and incorporate the Creative Commons Attribution - Non Commercial (unported) 3.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>). By accessing the work you hereby accept the Terms. Non-commercial use of this work is permitted without any further permission from Dove Medical Press Limited, provided the work is properly attributed. For permission for commercial use of this work, please see [page 42](http://www.dovepress.com/terms.php) and 5 of our terms (<http://www.dovepress.com/terms.php>).

Annexe 9: Occurrence of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an Algerian hospital

Original Article

Occurrence of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an Algerian hospital

Manel Merradi¹, Ahmed Kassah-Laouar^{2,3}, Ammar Ayachi⁴, Nouzha Heleili⁴, Taha Menasria⁵, Didier Hocquet⁶, Pascal Cholley⁶, Marlène Sauget⁶

¹ Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Natural and Life Sciences University of Batna 2, Batna, Algeria

² Faculty of Medicine, University of Batna 2, Batna, Algeria

³ Central Laboratory of Medical Biology, Anti-Cancer Center, Batna, Algeria

⁴ Department of Veterinary Sciences, Veterinary and Agricultural Sciences Institute, University of Batna 1, Batna, Algeria

⁵ Department of Applied Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Tebessa, Tebessa, Algeria

⁶ Hospital Hygiene, Regional University Hospital Center, Besançon, France

Abstract

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common nosocomial pathogens, known with a wide resistance to antimicrobials. Carbapenemases producing *Pseudomonas aeruginosa* is a growing global public health concern as this pathogen is easily transmissible among patients. Metallo-Beta-lactamases is the most important class of these carbapenemases with their broad-spectrum resistance profile. This study was conducted to investigate the prevalence of MBL-producing *P. aeruginosa* collected in an Algerian hospital.

Methodology: All Metallo- β -lactamase (MBL)-producing *P. aeruginosa* isolates recovered from patients during a 2 years period (2015-2016) were studied using a combination of phenotypic and molecular typing methods (susceptibility testing, molecular characterization of carbapenemase-encoding genes, multi-locus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis).

Results: A total of twenty-six MBL producing *P. aeruginosa* of 188 isolates were investigated. The burn unit ranked in the first position of the majority of identified cases with 73.07%. About 73.07% of total MBL isolates were mainly isolated from pus samples. The studied isolates were subjected to the molecular typing, in which 4 different Dnal-PFGE patterns and 3 sequences type were assigned (ST244, ST381, and ST1076), and all isolates were revealed positive for VIM-4.

Conclusions: We report the third description of *Mblm-4* in Algeria indicating the emergence and spread of carbapenemase-encoding genes among *P. aeruginosa* in the hospital environment.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; antibiotic resistance; MBL; VIM-4; PFGE; sequence type.

J Infect Dev Ctries 2019; 13(4):284-290. doi:10.3855/jidc.10679

(Received 05 July 2018 – Accepted 20 December 2018)

Copyright © 2019 Merradi et al. This is an open-access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic human pathogen that is considered as a major cause of many infections [1]. Its high genetic plasticity enables it to colonize a wide variety of environments and infect almost all anatomical sites [2]. It is responsible for severe hospital-acquired infections especially for the patients compromised by underlying disease, age or immune deficiency (burns, cystic fibrosis, meningitis, abscess, urinary tract infections, catheter-associated infections, and ocular infections) [3]. The intrinsic and acquired resistance of *P. aeruginosa* against many different types of antibiotics, in particular,

β -lactams complicates the treatment of these infections, often associated with high mortality rates.

P. aeruginosa has become increasingly resistant to broad-spectrum cephalosporins leading to the use of the last lines agents such as carbapenems [4]. As a result of the intensive use of these molecules, *P. aeruginosa* jeopardizes therapy and developed a resistance that threatened health care systems [5].

An important mechanism of carbapenem resistance is the production of carbapenemases often seen in the clinical isolates of *P. aeruginosa* [6]. The most important carbapenemases are zinc-dependent Metallo-beta-lactamases with a resist pattern to almost all β -lactams. The known MBLs of *Pseudomonas aeruginosa* are IMP (active on IMiPenem), SPM (Sao Paulo Metallo- β -lactamase), AIM (Australia IMipenemase), GIM (German IMipenemase), VIM

Annexe 10: Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacine or ciprofloxacin against *Acinetobacter baumannii* and *P.aeruginosa* carbapenem-resistant isolated in Annaba hospital Algeria

BIOCELL
2020 44(2): 175-182

Tech Science Press

Synergistic combination of colistin with imipenem, amikacine or ciprofloxacin against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem-resistant isolated in Annaba hospital Algeria

SAIDA MELIANI¹; SOUMAYA TOUMI¹; HETTHEM DJAHOUDI²; KHALIL DEGHDIGHI³; KAMEL AMOURA⁴; ABDELGHANI DJAHOUDI⁵*

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Laboratory of Microbiology, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

² Department of Biochemistry, Eco-biology Laboratory for Marine and Coastal Areas, Faculty of Sciences, BP 12 El-Hadjat, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

³ Faculty of Medicine, Pulmonology Service Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

⁴ Faculty of Medicine, CHU Annaba, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

⁵ Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Laboratory of Microbiology, Badji Mokhtar University, Annaba, BP 205, Algeria

Key words: Carbapenemase, Colistin, Combination, GNB-NF, Sub-inhibitory concentration

Abstract Objective: The aim of this study is to detect *in vitro* the synergistic activity of colistin in combination with imipenem, amikacin or ciprofloxacin, at sub-inhibitory concentrations, against carbapenem-resistant (CR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various wards in Annaba teaching hospital in eastern Algeria. **Materials and Methods:** The minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined by broth macrodilution (BMD). Carbapenemase encoding genes were screened using polymerase chain reaction (PCR). The activity of colistin in combination with second antibiotic was evaluated by the Checkerboard Technique.

Results: 39 CR *P. aeruginosa* and 21 CR *A. baumannii* strains were collected. The MIC values ranging from 0.25 to 4 µg/ml to colistin, ≥16 µg/ml for imipenem, ≥4 µg/ml to amikacin and ≥8 µg/ml ciprofloxacin. The PCR reveals the presence of the genes bla_{KPC28} (n = 12), bla_{OXA24} (n = 6), bla_{OXA58} (n = 3) in *A. baumannii* and bla_{IMP2} (n = 12) in *P. aeruginosa*. The combination of colistin with imipenem showed synergistic effect on 57.14% and 46.19% of *A. baumannii* and *P. aeruginosa* isolates, respectively. For colistin and amikacin, the synergistic effect is detected in 28.6% of *A. baumannii* and 30.8% of *P. aeruginosa*. While colistin and ciprofloxacin showed synergy on 14.29% and 15.38% of *A. baumannii* and *P. aeruginosa* isolates, respectively.

Conclusion: CR *A. baumannii* and *P. aeruginosa* remain the most prevalent infection agents in patients from high-risk wards at Annaba Hospital. Colistin associated with imipenem or with amikacin at sub-inhibitory concentrations gives very encouraging results allowing better management of infections caused by this type of bacteria.

Introduction

Non-fermenting Gram negative bacilli such as *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* are pathogens emerging as frequent causes of nosocomial infections, such as pneumonia, septicemia, skin, wound and urinary tract infections, with mortality rates of 18% to 61% in critically ill patients (Mohanty *et al.*, 2013; Mathlouthi *et al.*, 2015).

The treatment of these infections is often difficult because of the natural and acquired resistance of these

organisms to multiple classes of antibiotics, essentially extended-spectrum cephalosporins, aminoglycosides, and fluoroquinolones. This is what severely limits therapeutic options (Mohanty *et al.*, 2013). Carbapenems have been often used as treatment for infections caused by these multidrug-resistant (MDR) bacteria.

However, in recent years this situation has changed, with the emergence of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli (GNB), reported from different regions of the world, including Mediterranean countries (Mellouk *et al.*, 2017).

The most common mechanism of resistance is the acquisition of genes encoding for carbapenemases particularly, Metallo-β-lactamases (MBLs) in *P. aeruginosa* such as VIM, IMP, GIM, FIM, and SPM. The bla_{VIM-2} gene is the dominant Metallo-β-lactamase in all over the world (Toumi *et al.*, 2018). In Algeria, this gene was reported in

*Address correspondence to: Abdelghani Djahoudi, adjahoudi@yahoo.fr

Received: 11 November 2019; Accepted: 16 December 2019

Annexe 11: Emergence Of Plasmid Mediated Colistin Resistance Gene Mcr-1 In Carbapenem-Resistant *P.aeruginosa* Clinical Isolates From Algeria: A New Successful Resistance Combination Toward A Therapeutic Impasse?

Vol. 76 | No. 4/1 | Apr 2020
DOI: 10.21506/j.ponte.2020.4.16

PONTE
Pierence, Italy
International Journal of Sciences and Research

**EMERGENCE OF PLASMID MEDIATED COLISTIN RESISTANCE
GENE MCR-1 IN CARBAPENEM-RESISTANT *PSEUDOMONAS
AERUGINOSA* CLINICAL ISOLATES FROM ALGERIA: A NEW
SUCCESSFUL RESISTANCE COMBINATION TOWARD A
THERAPEUTIC IMPASSE?**

Addouda Abir^{1*} (Corresponding author)

E-mail: addoudaabir@gmail.com

*Laboratory of Applied Microbiology in Food, Biomedical and Environment (LAMAABE), Department of
Biology, Faculty of nature and life, Earth and, Universe Sciences, Aboubekr Belkaid University of Tlemcen*

13000 Tlemcen, Algeria, Tel: 05.40.44.57.91/06.73.61.02.09

Postal address: postal box number 07- TAZOULT-BATNA- ALGERIA

*Ayachi Ammar*², *Hassaine Hafida*¹, *Dhaouadi Sana*³, *Soufi Leila*³, *Mahjoubi Mouma*³,
*Benmehidi Mezzaoud*⁴, *Grainat Nadia*⁴, *Elandalousi Ramzi Boubaker*³

E-mails for all authors

addoudaabir@gmail.com, aayachi54@yahoo.fr, h_hassaine@yahoo.fr,
sanadhaouadi5@gmail.com, leila.soufi@gmail.com, moumamahjoubi@gmail.com,
drbenmedi@yahoo.fr, Algodol@yahoo.fr, ramzi.b.landolzi@gmail.com

⁽¹⁾*Laboratory of Applied Microbiology in Food, Biomedical and Environment (LAMAABE), Departement of
Biology, Faculty of nature and life, Earth and Universe Sciences, Aboubekr Belkaid University of Tlemcen
13000 Tlemcen, Algeria.*

⁽²⁾*Laboratory of Health, Animal Production and Environment (ESPA), University of Batna, Algeria.*

⁽³⁾*University Manouba, ISBST, BVBGR-LR11ES31, Biotechpole of Sidi Thabet, 2020 Ariana, Tunisia*

⁽⁴⁾*Faculty of Medicine, University of Batna 2, Batna, Algeria.*

ABSTRACT

Objectives: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the main causes of nosocomial infections, especially in immunocompromised patients in burn and intensive care units, who have inherited a number of drug resistance determinants via horizontal mutation. For this reason, our work has also been conducted to prove the genetic relationship between strains and to investigate the occurrence of genes conferring high levels of carbapenem and colistin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the Algerian hospital.

Annexe 12: Characterization of antibiotic resistance profiles in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients

BURNS 47 (2021) 1833–1843



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/burns



Characterization of antibiotic resistance profiles in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn patients

**Asma Tchakal-Mesbahi^a, Merzak Metref^b, Vijay K. Singh^{c,d,e},
Marianna Almpani^{c,d,e}, Laurence G. Rahme^{c,d,e,*}**

^a Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, University of Sciences and Technology Houari Boumediene, P.B. 32 El-Alia, Bab-Ezzouar, 16111, Algiers, Algeria
^b Microbiology Laboratory of the Burn Center, The Central Hospital of Army, BP 244 Kouba, Algiers, Algeria
^c Department of Surgery, Harvard Medical School and Massachusetts General Hospital, Boston, MA 02114, USA
^d Shriners Hospitals for Children Boston, Boston, MA 02114, USA
^e Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA



ARTICLE INFO

Keywords:

Pseudomonas aeruginosa
Burn wound
Multidrug drug-resistance
Extended-spectrum beta-lactamase
CTX-M2
PCR

ABSTRACT

Objective: To investigate the prevalence of multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* (PA) producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and metallo-beta-lactamases (MBLs) in burn patients in Algeria.

Methods: Between April 2016 and October 2019, 47 non-redundant isolates of PA were collected from 47 burn patients admitted to the Department of Burns at the Military Hospital of Algiers in Algeria. Antibiotic susceptibility testing was performed by agar diffusion and the Phoenix automated method. Resistance genes were identified by PCR, and molecular typing of isolates was carried out by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) sequences-polymerase chain reaction (PCR).

Results: Among the 47 non-redundant MDR PA strains isolated, 59.57% were phenotypically ESBLs-positive, and 100% were phenotypically MBL-positive. The ESBL-positive isolates were subsequently screened for six groups of *bla* genes encoding ESBL-type enzymes, namely *bla*CTX-M2, *bla*PER, *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*VEB, and *bla*GES. Out of the 28 ESBL-producing strains, 23 (82.14%) were *bla*CTX-M2 positive; 18 (38.29%) were *bla*PER positive, and 16 (34.04%) were *bla*TEM positive, while 5 (17.9%) were co-harboring *bla*CTX-M2, *bla*TEM, and *bla*PER genes. The *bla*SHV, *bla*VEB, and *bla*GES genes were not detected in any of the ESBL-positive isolates. Since all isolates were MBL-positive, all 47 strains were screened for the *bla*NDM-1, *bla*IMP, and *bla*VIM genes that produce MBLs; however, none of these genes were detected. Additional screening for the *oxyD* gene demonstrated that 45 (95.74%) of the isolates were positive for this gene. Finally, ERIC PCR revealed 11 distinct PA clones among the *bla*CTX-M2 positive strains.

Conclusion: This is the first study to report the presence of CTX-M2-producing PA in the North Africa region and the first to detect *bla*CTX-M2-positive and *bla*PER-positive PA clinical

Abbreviations: MDR, multidrug resistant; PA, *Pseudomonas aeruginosa*; ESBL, extended-spectrum beta-lactamase; MBLs, metallo-beta-lactamases; ERIC, enterobacterial repetitive intergenic consensus; PCR, polymerase chain reaction; APH, aminoglycoside phosphoryl-transferase; ACC, aminoglycoside acetyl-transferase; ANT, aminoglycoside nucleotidyltransferase; AST, antimicrobial susceptibility testing; MIC, minimum inhibitory concentration; EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; LB, Luria Bertani; S, sensitive; R, resistant; IEDDS, imipenem-EDTA double-disk synergy; DDST, double-disc synergy test; REP, repetitive extragenic palindromic.

* Corresponding author at: Massachusetts General Hospital, 340 Thayer Research Building, 50 Blossom Street, Boston, MA 02114, USA.
E-mail address: rahme@molbio.mgh.harvard.edu (L.G. Rahme).

<https://doi.org/10.1016/j.burns.2021.03.005>
0805-4179/© 2021 Elsevier Ltd and ISBI. All rights reserved.

Annexe 13: Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ticarcilline aux hôpitaux d'Annaba.

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji <i>et al.</i> , 2015	80	54
Meradji <i>et al.</i> , 2016	30	30
Bourafa <i>et al.</i> , 2018	9	8
Meliani <i>et al.</i> , 2020	39	24
Total	158	116

Taux de résistance = $116/158*100 = 73.41\%$

Annexe 14 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ticarcilline/acide clavulanique aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji <i>et al.</i> , 2015	80	45
Meradji <i>et al.</i> , 2016	30	21
Bourafa <i>et al.</i> , 2018	9	8
Meliani <i>et al.</i> , 2020	39	24
Total	158	98

Taux de résistance = $98/158*100 = 62.02\%$

Annexe 15 : Le taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ticarcilline dans le CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi <i>et al.</i> , 2019	188	60
Addouda <i>et al.</i> , 2020	27	18
Total	215	78

Taux de résistance = $78/215*100 = 36.27\%$

Annexe 16 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ticarcilline/acide clavulanique dans le CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	66
Addouda et al., 2020	27	20
Total	215	86

Taux de résistance = $86/215*100 = 40\%$

Annexe 17 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ceftazidime aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji et al., 2015	80	45
Meradji et al., 2016	30	28
Bourafa et al., 2018	9	7
Meliani et al., 2020	39	24
Total	158	104

Taux de résistance = $104/158*100 = 65,82\%$

Annexe 18 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ceftazidime au CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	28
Addouda et al., 2020	27	8
Total	215	36

Taux de résistance = $36/215*100 = 16,74\%$

Annexe 19 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à l'imipénème aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Bourafa et al., 2018	9	2
Meliani et al., 2020	39	39
total	48	41

Taux de résistance : $41/48*100 = 85,41\%$

Annexe 20 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à l'imipénème au CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	39
Addouda et al., 2020	27	17
Total	215	56

Taux de résistance = $56/215*100= 26.04\%$

Annexe 21 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ciprofloxacine aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji et al., 2015	80	35
Meradji et al., 2016	30	7
Bourafa et al., 2018	9	7
Meliani et al., 2020	39	36
Total	158	85

Taux de résistance = $85/156*100= 53,79\%$

Annexe 22 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la ciprofloxacine au CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	00
Addouda et al., 2020	27	5
Total	215	5

Taux de résistance = $5/215*100 = 2,3\%$

Annexe 23 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la gentamycine aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji et al., 2015	80	17
Meradji et al., 2016	30	24
Bourafa et al., 2018	9	5
Meliani et al., 2020	39	39
Total	158	85

Taux de résistance= $85/158*100= 53.79\%$

Annexe 24 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à la gentamycine au CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	49
Addouda <i>et al.</i> , 2020	27	13
Total	215	62

Taux de résistance = $62/215*100= 28,83\%$

Annexe 25 : Taux de résistance de *P.aeruginosa* à l'amikacine aux hôpitaux d'Annaba

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Meradji et al., 2016	30	15
Bourafa et al., 2018	9	0
Meliani et al., 2020	39	14
Total	105	29

Taux de résistance = $29/105 \times 100 = 27,61\%$

Annexe 26 : Taux de résistance de *Paeruginosa* à l'amikacine au CHU de Batna

L'article	Souches identifiées	Souches résistantes
Merradi et al., 2019	188	58
Addouda et al., 2020	27	11
Total	215	69

Taux de résistance = $69/215 \times 100 = 32,09\%$